



Etude des interactions feuille/lumière et de leurs implications pour le phénotypage haut débit au champ

Alexis Comar

► To cite this version:

Alexis Comar. Etude des interactions feuille/lumière et de leurs implications pour le phénotypage haut débit au champ. Sciences agricoles. Université d'Avignon, 2013. Français. NNT : 2013AVIG0652 . tel-01196344

HAL Id: tel-01196344

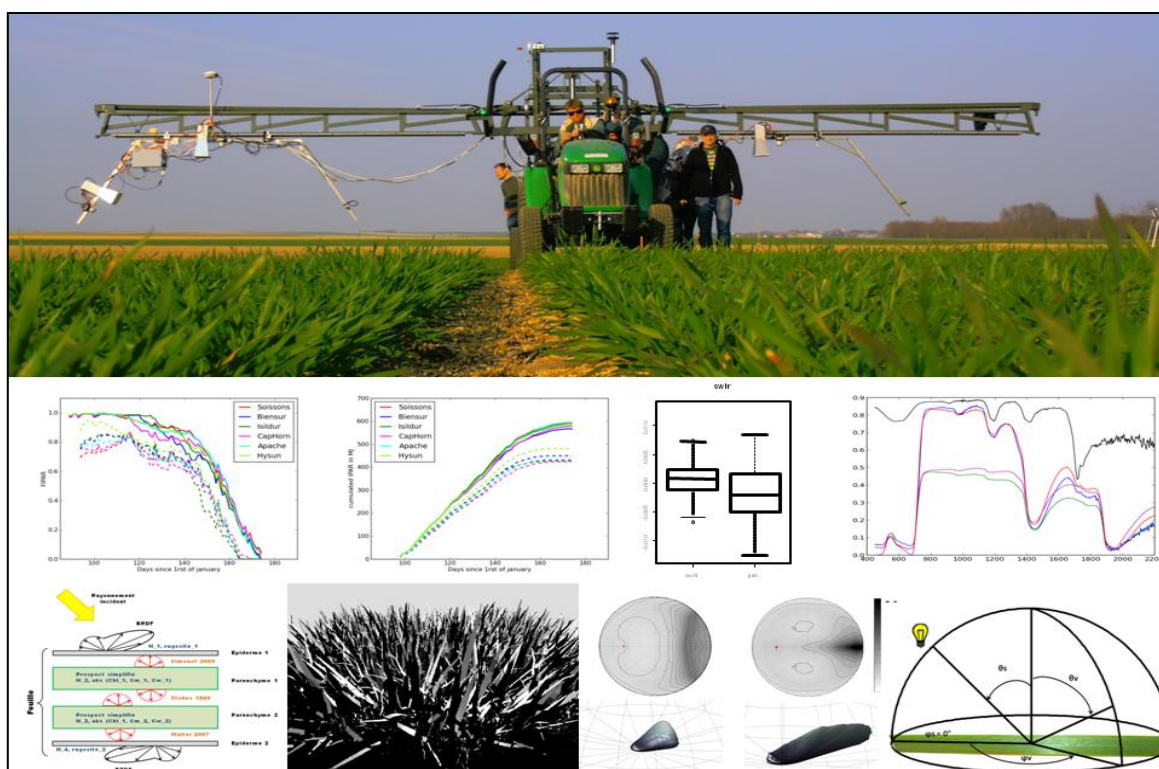
<https://theses.hal.science/tel-01196344>

Submitted on 9 Sep 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Etude des interactions feuille/lumière et de leurs implications pour le phénotypage haut débit au champ



Thèse dirigée par Frédéric Baret
Avec le soutien de Benoit de Solan

Soutenue le 27 mai 2013 devant le jury composé de :

Stéphane Jacquemoud
Christophe Salon
Philippe Gate
Sébastien Praud
Françoise Viénot
Benjamin Bringuier

Président et Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur

Remerciements

Ce travail a été encadré à la fois par mon directeur de thèse : Fred Baret ainsi que par mon « boss » : Benoit de Solan. En effet cette thèse a été financée par Arvalis Institut du végétal via une bourse CIFRE. Je les remercie vivement pour leur patience et bienveillance à mon égard.

Dans ce travail, de nombreux résultats sont présentés. Je tiens à remercier Françoise Viénot et Philippe Burger qui ont rendu toutes mes manip possibles dans leur laboratoire respectif. Je souhaite également remercier Jean-François Hanocq, qui avant son départ en retraite a participé activement à la mise en place de toutes les manip.

J'ai également pu bénéficier tout au long de ma thèse d'un énorme soutien à la fois technique et scientifique de nombreuses personnes : Gaël Obein, Lionel Simonot, Daniel Menevaux, Christophe Pradal, Christian Fournier, Jean-Michel Roger, Pierre Bancal, Michael Chelle. Merci à eux.

Et enfin pour avoir suivi de près ou de loin l'avancé de mes travaux et en essayant de m'orienter au mieux, je tiens également à remercier : Gilles Rabatel, Pierre Roumet, Stéphane Jacquemoud, Bruno Andrieu et Philippe Gate.

Avant Propos

J'ai choisi de rédiger une thèse sur articles. Afin de simplifier et homogénéiser le langage du manuscrit, les papiers figurent en annexe. Ainsi dans ce travail, je vais situer mes travaux dans le contexte plus général afin de mettre en valeur le fil directeur de ce travail de doctorat. Ce manuscrit reprend donc les résultats essentiels des différentes publications afin de les articuler autour de ma problématique de thèse défini en introduction.

Table des matières

Remerciements.....	2
Avant Propos.....	3
Table des matières.....	4
1 Introduction	6
1.1 Contexte général.....	6
1.1.1 Importance de la sélection variétale.....	6
1.1.2 Qu'est ce que le phenotypage haut débit ?.....	7
1.1.3 L'émergence d'un besoin de phenotypage.....	8
1.2 Etat de l'art du phenotypage au champ	9
1.2.1 Les différentes disciplines s'intéressant à la caractérisation au champ des couverts végétaux 9	
1.2.2 Les travaux à l'échelle du couvert.....	10
1.2.3 Les travaux a l'échelle de l'organe.....	11
1.2.4 Les différentes variables d'intérêts pour la caractérisation d'un couvert végétal	12
1.2.5 Synthèse des travaux	15
1.3 Objectifs de la thèse.....	17
2 Les avancées pratiques du phenotypage haut débit au champ	18
2.1 Les mesures optiques pour le phenotypage haut débit	18
2.1.1 Généralités sur les mesures « optiques »	18
2.1.2 Les mesures sur feuille.....	24
2.1.3 Les mesures spectro-radiométriques à l'échelle du couvert.....	26
2.2 L'estimation des constituants biochimiques à l'échelle de l'organe	30
2.2.1 Application aux problématiques du phenotypage haut débit	30
2.2.2 Et l'azote ?.....	33
2.3 L'estimation des variables phénotypiques d'intérêts à l'échelle du couvert	35
2.3.1 Complémentarité entre mesures issues des deux types de capteurs	35
2.3.2 Les variables accessibles	36
2.3.3 La prise en compte de la dynamique	37
2.3.4 Les variables issues du phenotypage haut débit sont elles héritablees ?	38
2.4 Identification des limites du système actuel	39
2.4.1 Le vecteur.....	40
2.4.2 Les capteurs	40
2.4.3 L'interprétation du signal des capteurs	41
3 La BRDF des feuilles : mesure, modélisation et conséquence au niveau du couvert.....	42
3.1 La mesure des propriétés directionnelles des feuilles.....	42

3.1.1	Comment réaliser des mesures de BRDF/BRF	42
3.1.2	Les mesures de réflectance directionnelles de feuilles	45
3.2	Modélisation de la BRDF des feuilles de blé	51
3.2.1	Revue des modèles disponibles	51
3.2.2	Extension du modèle de Cook et Torrance cas anisotrope des feuilles de blé.....	55
3.3	Prise en compte des propriétés directionnelles des feuilles de blé sur le couvert	60
3.3.1	Les différentes modélisations du couvert végétal et leurs utilités	60
3.3.2	Intégration de la BRDF des feuilles dans un modèle décrivant le couvert	62
4.	Conclusion générale.....	64
	Bibliographie	68
5.	Annexes.....	75

1 Introduction

1.1 Contexte général

1.1.1 Importance de la sélection variétale

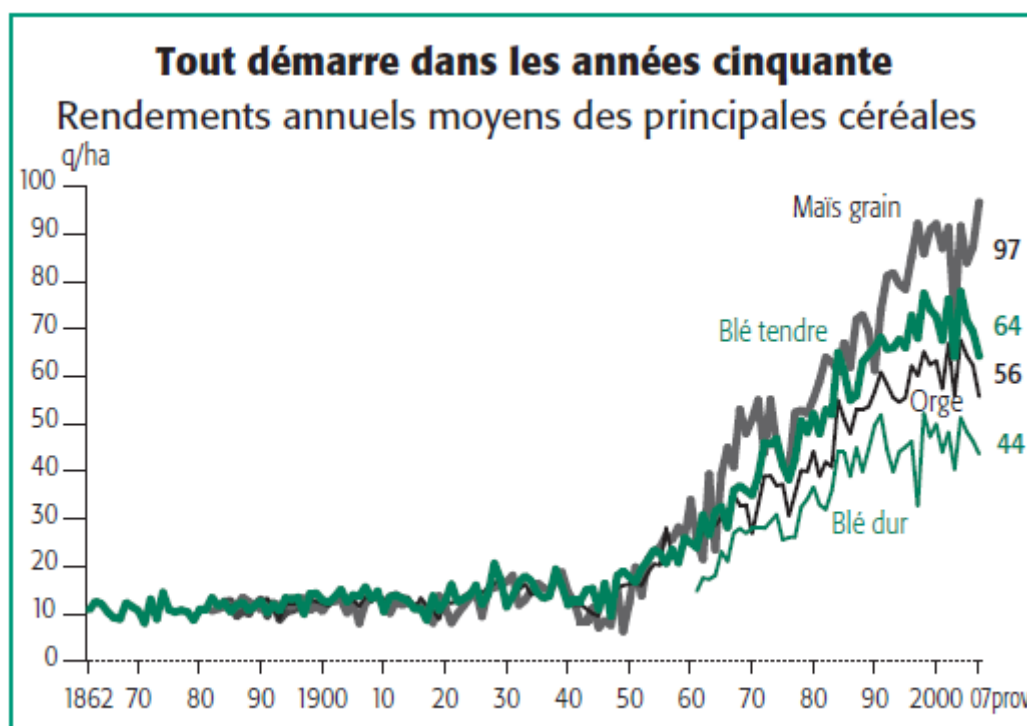
Depuis la sédentarisation des populations, les premiers agriculteurs en semant les graines les plus favorables aux traits qu'ils recherchaient (rendement, digestibilité, etc) ont domestiqué les plantes cultivables que nous connaissons. Le maïs est issu de la domestication de la téosinte au Mexique il y a environ 9000 ans, le riz a été domestiqué dans la vallée du Yantsé il y a 6500 ans. Le blé a connu une domestication complexe car il est l'addition de plusieurs génomes distincts qui se sont par la suite combinés. Ses origines remontent à plus 4000 ans en Mésopotamie. Ces exemples montrent que le processus de sélection génétique des plantes, c'est-à-dire l'évaluation de manière consciente de leurs caractéristiques phénotypiques par les populations humaines est une activité ancienne.

La sélection variétale telle que nous la concevons aujourd'hui a réellement débuté après la seconde guerre mondiale. C'est une des composantes de la « révolution verte ». Les autres composantes étant l'utilisation massive d'intrants (azote minéral), la mécanisation de l'agriculture et la protection phytosanitaire des champs. Par cette combinaison de facteurs, les agronomes ont privilégié l'amélioration du rendement et de la qualité des productions végétales. Pour le blé, la sélection génétique permet d'augmenter le rendement potentiel des variétés de manière continue (environ 0.1 t/ha/an) depuis les années 70 (Brisson et al. 2010). Le rendement réel moyen du blé, c'est-à-dire réalisé par les agriculteurs, a lui aussi augmenté de manière spectaculaire : on passe d'environ 20 quintaux/ha par hectare dans les années 1950 à 70 quintaux/ha dans les années 2000. Cette tendance n'est pas spécifique au blé comme le montre la Figure 1 issue des données du Ministère de l'Agriculture.

On remarque cependant que l'augmentation du rendement agricole moyen stagne depuis une dizaine d'année (Bisault 2008; Brisson et al. 2010). Une des causes probable est la modification du climat, avec des événements extrêmes plus fréquents (excès d'eau, stress thermique, stress hydrique, etc) pouvant avoir des conséquences à diverses périodes du cycle de développement de la culture. L'évolution des pratiques peut également contribuer à cette stagnation.

Le développement actuel de l'agriculture biologique et la volonté de proposer une agriculture écologiquement intensive pour limiter l'impact environnemental de l'agriculture impose de caractériser la réponse des variétés à leur environnement de manière plus précise et sur des bases physiologiques. Par exemple, la capacité des variétés à conserver un niveau de production et de qualité élevé en conditions sub-optimales devient un critère de choix important pour les producteurs. L'identification des mécanismes en jeu (résistance, tolérance, échappement) est complexe et nécessite une compréhension fine des processus physiologiques au cours du cycle de développement de la culture. Dans le processus de sélection traditionnel, peu d'observations sur les conséquences physiologiques d'un stress sur le couvert sont réalisées. Il est ainsi difficile de comprendre pourquoi certaines variétés résistent mieux à un stress qu'une autre. La sélection s'effectue essentiellement sur les composantes du rendement ainsi que quelques observations visuelles qualitatives telles que la phénologie ou la résistance aux maladies.

Aujourd'hui, l'explosion des capacités de génotypage (caractérisation du génome) offre l'opportunité d'identifier plus finement les déterminants des traits observés et sélectionnés chez les plantes.



Source : Agreste - Statistique agricole annuelle

FIGURE 1: EVOLUTION DE LA PRODUCTION PAR HECTARE DES PRINCIPALES CULTURES CEREALIERES EN FRANCE (BISAULT 2008).

1.1.2 Qu'est ce que le phénotypage haut débit ?

Le phénotype consiste en la caractérisation des attributs visibles et mesurables d'un être vivant. Une espèce est composée d'une population d'individus qui possèdent des traits phénotypiques communs. Ils possèdent également des différences qui peuvent être mesurables. Ces différences proviennent à la fois du génotype et de l'environnement dans lequel évolue l'individu. Le suffixe « age » (dans phénotypage) désigne l'action de mesurer le phénotype de différents individus d'une même espèce. Concrètement le phénotypage haut débit du blé est l'action de mesurer de manière massive (effectuer des milliers de mesures) des micro-parcelles de blé ayant des caractéristiques différentes : variétés, densité de semi, apport en azote, phosphore, etc. L'objectif du phénotypage est toujours de quantifier puis de discriminer différentes variétés en fonction d'un ou plusieurs traits phénotypiques. Ces traits s'expriment différemment en fonction de l'environnement : météo, intrants, stress biotique ... Jouer avec ces deux facteurs, génotype (variétés, lignées, accessions ...) et environnement, constituent la base d'un essai variétal.

Aujourd'hui le rendement est le trait phénotypique le plus suivi dans tous les essais variétaux. Le rendement et ses composantes sont en effet les variables que l'on cherche à améliorer in-fine. Ce sont des variables qui peuvent être mesurées à la fois de manière massive et rapide : il existe de nombreuses machines aidant à la mesure du rendement et de ses composantes. Le défi du phénotypage est d'identifier un ensemble de variables d'intérêt agronomique et physiologique dont une partie sera décrite dans les prochains paragraphes. Ces variables d'intérêt sont utilisées par les sélectionneurs pour identifier les gènes associés et les variétés conférant une plus grande plasticité aux aléas culturels. C'est « l'eco-Breeding ».

Dans le cadre de mon travail de thèse, je me suis concentré sur les problématiques liées au phénotypage haut débit appliqué aux espèces communément appelées blé : *triticum aestivum* et *triticum durum*.

1.1.3 L'émergence d'un besoin de phénotypage

Le développement rapide des techniques de génotypage haut débit a initié la volonté de faire émerger en parallèle des techniques de phénotypage haut débit. La notion de génotype est relativement récente : Mendel (1866) a été le premier à démontrer l'hérédité d'un trait phénotypique lié à un seul et unique gène chez le pois. (Watson & Crick 1953) ont été les premiers à proposer une description précise de l'ADN. Depuis, des avancées majeures se réalisent de manière exponentielle dans le domaine de la génétique ; les « QTL » (Quantitative trait Loci), les « SNP » (Single Nucleotide polymorphisme), les puces à ADN, etc... sont des concepts qui ont révolutionné la génétique grâce au développement parallèle de la bio-informatique. Aujourd'hui des téra-octets de données peuvent être produites dans le domaine du génotypage. Malheureusement les données phénotypiques à associer aux données génotypiques manquent (Furbank & Tester 2011). Il existe une abondante littérature sur le phénotypage d'*Arabidopsis thaliana*, plante modèle pour tous les généticiens du monde végétal. En effet cette plante a été choisie car sa culture peut être effectuée facilement en conditions contrôlées où l'automatisation est possible et relativement simple à mettre en œuvre. Cette tendance s'est ensuite étendue au phénotypage d'espèce à intérêt agronomique sous serre dans de grands sites de recherche. Les sites pionniers sont :

- en Australie, Plant Accelerator (www.plantaccelerator.org.au) et High resolution plant phenotyping centre (www.plantphenomics.org.au/HRPPC),
- en Angleterre l' Institute of biological Environmental and rural science www.aber.ac.uk/en/ibers,
- en Allemagne le Leibniz Institute of Plant Genetics and crop plant research www.ipk-gatersleben.de, Jülich Plant Phenotyping Centre (JPPC) (http://www.fz-juelich.de/ibg/ibg-2/EN/About_us/organisation/JPPC/)
- en France l'INRA de Montpellier a deux dispositifs nommés respectivement Phenoarch et Phenodyn.

De nouveaux sites sont entrain d'être créés à travers le monde notamment aux Etats-unis et en Chine.



FIGURE 2: EXEMPLE DE FACILITE EN MILIEU CONTROLE POUR EFFECTUER DU PHENOTYPAGE HAUT DEBIT: PHENODYN (INRA MONTPELLIER).

L'approche sous serre est fondamentale pour faire le lien entre la génétique et les processus biochimiques de la plante. Elle est cependant, de part nature, très éloignée des conditions de culture réelles des plantes au champ : étiolement dû au manque de lumière, quantité et substrat de sol non représentatif et climat régulé qui diffère des conditions en plein champ. De plus il est très compliqué

de reproduire sous serre des phénomènes classiques au champ : compétition entre plantes, effets climatiques (vent, température, gel, etc.)...

Un autre aspect motive également les recherches sur le phénotypage haut débit au champ. Pour comprendre la physiologie de la plante, les protocoles expérimentaux ont besoin de mesures non destructives pour être capable de suivre la dynamique d'une variable d'état du couvert. De plus pour valider un mécanisme découvert au travers de la mesure, il est nécessaire de répéter de nombreuses fois l'expérimentation pour obtenir une puissance statistique suffisante. Enfin, la compréhension des mécanismes sous-tendant le fonctionnement du couvert est essentielle pour orienter la sélection génétique. Ainsi le phénotypage haut débit répond à un double besoin :

- améliorer notre compréhension du fonctionnement de la plante
- fournir de manière haut-débit des variables à mettre en relation avec l'information génétique de la plante

1.2 Etat de l'art du phénotypage au champ

1.2.1 Les différentes disciplines s'intéressant à la caractérisation au champ des couverts végétaux

L'intérêt porté à la caractérisation des parcelles agricoles n'est pas nouveau. En effet, la communauté « télédétection » travaille sur le sujet depuis les années 70 (Rouse 1974) avec des objectifs variés. De manière non exhaustive on peut citer la volonté de :

- prédire le rendement (pour les crises alimentaires et les marchés)
- différencier les espèces variétales cultivées (pour les assurances agricoles et les politiques agricoles par exemple)
- évaluer la biomasse produite à un endroit (pour adapter les politiques publiques)
- etc...

Ainsi cette communauté a travaillé à toutes les échelles entre le m² et le km² pour essayer de décrire et de comprendre les phénomènes physiques en jeux lorsque l'on mesure avec les outils de la télédétection (capteurs aéroportés ou embarqués sur des satellites) de la végétation.

Plus récemment une nouvelle communauté travaillant sur l'Agriculture de précision s'est intéressée à ces problématiques aux plus fortes résolutions spatiales. En effet l'objectif de cette communauté est d'optimiser les interventions au champ dans le cadre d'un suivi cultural en jouant sur plusieurs paramètres :

- dans un premier temps en optimisant les trajets effectués par le tracteur en utilisant un GPS par exemple (Lange 1996),
- puis dans un deuxième temps en estimant grâce à des capteurs embarqués la quantité optimale d'azote à épandre ainsi que de cibler les apports phytosanitaires à une agression biotique (Zhang et al. 2002).

Enfin n'oublions le travail effectué à la fois par les sélectionneurs et les généticiens. En effet, confrontés à de nouvelles problématiques et disposant que de peu d'outils, ils ont également travaillé sur le phénotypage au champ. Ces communautés habituées à utiliser des outils statistiques complexes ont ainsi essayé de porter au champ les méthodes qui se sont avérées efficaces en conditions contrôlées (Vigneau et al. 2011).

La communauté de phénotypage haut débit au champ est en ce début 2013 à ses balbutiements. On peut cependant noter une augmentation des articles publiés sur le sujet. Citons à titre d'exemple les

synthèses de (A. Walter et al. 2012; Fiorani et al. 2012; White et al. 2012), mais aussi les articles traitants des mesures spécifiques au phénotypage (Montes et al. 2007; Busemeyer et al. 2013).

Dans les deux sous parties suivantes, je vais essayer de dresser l'état de l'art des différentes communautés travaillant à la fois à l'échelle du couvert ainsi qu'à celle de l'organe.

1.2.2 Les travaux à l'échelle du couvert

Nous ne considérerons que les travaux pertinents pour des mesures à l'échelle des parcelles expérimentales (pour caractériser un m² moyen). Les capteurs utilisés donnent accès à des résolutions spatiales d'ordre millimétrique à métrique.

Lorsqu'une mesure est réalisée sur une surface importante (surface supérieure à l'organe), les propriétés spectrales intègreront à la fois des caractéristiques de structure et les propriétés optiques des éléments, liées en partie à leur composition biochimique. Ces travaux ont surtout été réalisés par la communauté « télédétection » qui a défini des indices multi-spectraux sensibles à une (ou plusieurs) variable(s) du couvert, soit en l'inversion d'un modèle de transfert radiatif à l'échelle du couvert simulant ses propriétés spectrales. Il existe des milliers d'indices multi-spectraux, qui ont tous leurs avantages et leurs inconvénients ; citons à titre d'exemple le NDVI (Rouse 1974) sensible à la fois au taux de couverture, au taux de chlorophylle du couvert et aux propriétés optiques du sol, mais aussi le MCARI2 (Haboudane et al. 2004) très sensible au LAI, et le MTCI (Dash & P. J. Curran 2004) très sensible à la chlorophylle. D'autres méthodes d'estimation des caractéristiques du couvert ont été développées, basées sur l'inversion d'un modèle du transfert radiatif. Cette méthode est complexe car le problème est mal posé : plusieurs combinaisons de variables permettant de décrire le couvert correspondent au même signal radiométrique mesuré. Plusieurs techniques de régularisation ont été proposées pour améliorer les estimations en imposant diverses contraintes au problème inverse afin de réduire le champ des possibles. Le modèle étant une simplification de la réalité, il contient des erreurs qui sont dans la pratique très difficiles à caractériser et qui peuvent engendrer des biais d'estimation significatifs. Citons le modèle de transfert radiatif simple le plus célèbre : PROSAIL (Jacquemoud et al. 2009), qui est composé de l'association d'un modèle représentant un milieu turbide de feuille (le couvert) SAIL (W. Verhoef 1984) et de PROSPECT un modèle simulant les propriétés optiques des feuilles (S. Jacquemoud & F. Baret 1990). Les principales études traitant des problèmes d'inversion de ce modèle (S. Jacquemoud et al. 2000; Weiss et al. 2000; S. Jacquemoud 1993; F. Baret et al. 2007) proposent des méthodes de régularisation du problème inverse. Pour le phénotypage haut débit la nature mal posée du problème est doublement problématique : les approximations du modèle de transfert radiatif et les possibles compensations entre variables peuvent induire des erreurs importantes et des confusions d'effets.

Le passage à l'échelle millimétrique au travers de l'imagerie est une des solutions envisageables pour contraindre la nature mal posée du signal radiométrique à l'échelle du couvert. Ainsi nous obtenons une description spatiale du couvert qui est complémentaire de sa description spectrale. En effet les effets de structure du couvert sont bien mieux décrits ainsi que les propriétés spectrales des différents organes (et plus leur intégration sur une surface). Cette description spectrale et spatiale du couvert permet d'obtenir directement quelques variables comme le taux de couverture (ou la fraction de trou) (Andrieu & Hervé Sinoquet 1993) qui sont reliées de manière plus ou moins directe à d'autres variables plus intégratives comme le LAI (F. Baret et al. 2010).

Notre étude de la bibliographie montre que l'on peut regrouper les variables d'intérêt pour le phénotypage en quatre grandes catégories:

- les variables de structure,
- les variables biochimiques,
- les variables d'états,
- les indicateurs.

1.2.3 Les travaux à l'échelle de l'organe

Comme nous l'avons vu précédemment, que ce soit à des fins de modélisation ou parce que l'on a un accès direct à la mesure, les propriétés optiques des éléments d'un couvert végétal sont importantes. La feuille est à la fois l'organe qui réalise la majorité de l'interception du rayonnement et des échanges gazeux pour la photosynthèse. Elle peut également stocker les assimilats qui seront remobilisés vers le grain lors du remplissage de ce dernier. De plus, avec l'épi, ce sont les organes qui occupent la surface vue par le capteur la plus importante. Parmi les différents organes, ce sera donc l'étude la feuille qui sera privilégiée.

La majorité des travaux utilisent le spectre électromagnétique allant de 400nm à 2500nm pour déterminer le contenu en éléments biochimiques : principalement le contenu en chlorophylle, en matière sèche et en eau mais aussi la présence d'autres pigments tel les caroténoïdes ou les composants du cycle de la xanthophylle. Pour ce faire, deux tendances se dégagent :

- l'utilisation d'indices qui sont fortement corrélés à la teneur de l'élément biochimique à estimer. En ce qui concerne les pigments, les principaux travaux ont été proposés par (A. A. Gitelson et al. 2003; A. A. Gitelson et al. 2006) ; pour l'eau on peut citer (Hunt & Rock 1989; Seelig et al. 2008) ; pour la matière sèche qui résulte de la somme des différents constituants de la structure des feuilles (cellulose, hémicellulose, sucre, lignine ...) c'est principalement les travaux de (Th. Fourty et al. 1996) qui ont montré que son estimation est possible.
- L'utilisation d'un modèle basé sur des principes physiques et son inversion. PROSPECT (S. Jacquemoud & F. Baret 1990) est le modèle le plus utilisé. Il en existe d'autres citons LIBERTY (Dawson et al. 1998), LEAFMOD (Ganapol et al. 1998), DLM (Jan Stuckens et al. 2009). Les principaux travaux discutant des possibilités d'inversion de PROSPECT sont tous focalisés sur la qualité de l'estimation multi-espèce du modèle : (Feret et al. 2008; F. Baret & T. Fourty 1997; S. Jacquemoud et al. 1996; Th. Fourty et al. 1996). Ceci peut bien sûr poser un problème lorsque l'on s'intéresse à la variabilité à l'intérieur d'une espèce.

Parallèlement à ce travail, des travaux plus empiriques ont tenté de relier le spectre de réflectance mesuré avec le contenu ou la concentration en azote du couvert ou des feuilles. Des outils de mesure commerciaux ont été mis au point : citons le SPAD (Spectrum Technologies Illinois, USA, www.specmeters.com) qui est vendu pour mesurer la chlorophylle mais principalement utilisé pour estimer la nutrition azotée des feuilles, le N-tester (Yara, www.yara.com), et la pince ASD combinant un jeu d'apprentissage avec des techniques chimiométriques (Ecarnot et al. 2013).

La répartition spatiale des composants biochimiques dans la feuille et entre les feuilles a été moins étudiée. C'est pourtant une information importante notamment pour la caractérisation de la dynamique de remobilisation de l'azote vers le grain. C'est aussi un élément de complexité quand on réalise une mesure à l'échelle du couvert.

1.2.4 Les différentes variables d'intérêts pour la caractérisation d'un couvert végétal

Nous proposons ici de décrire les différentes variables d'intérêt pour le phénotypage haut débit au champ (PhDc) d'un couvert de blé.

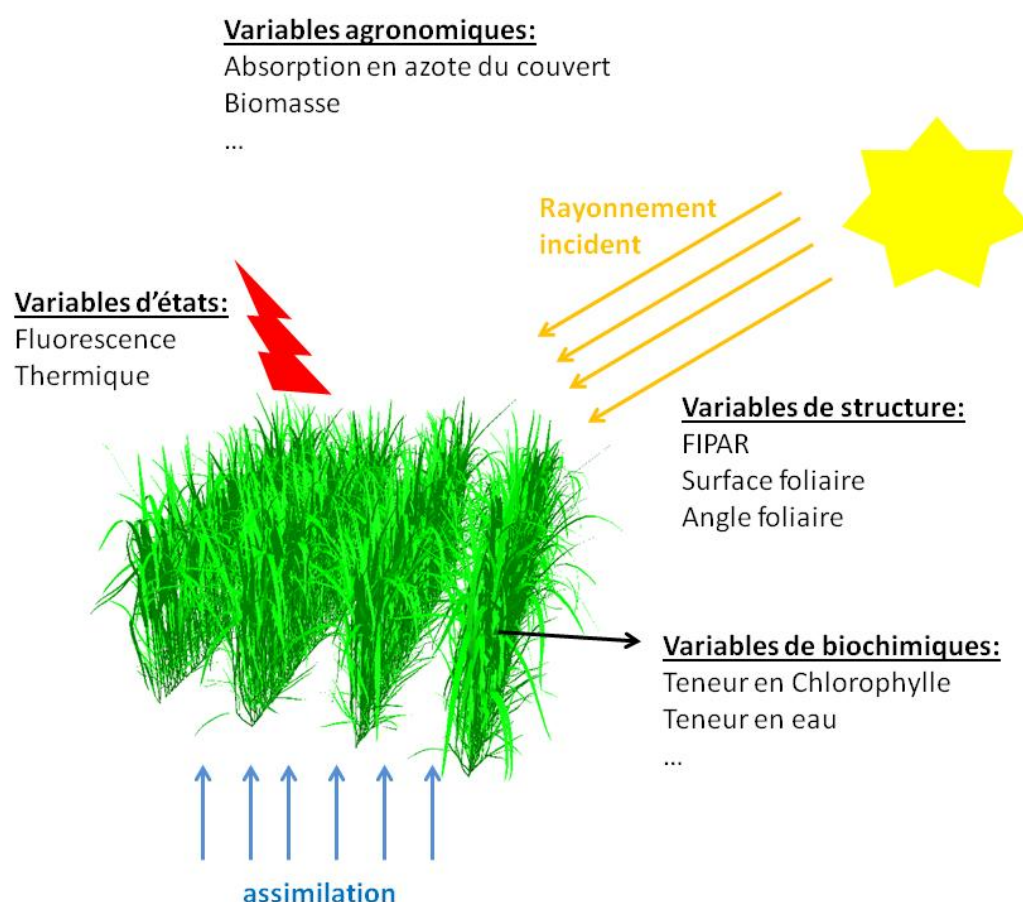


FIGURE 3: SCHEMA DES DIFFERENTS GROUPES DE VARIABLES MESURABLES ET D'INTERETS POUR DECRIRE LA PARTIE AERIENNE D'UN COUVERT VEGETAL

Certaines variables sont directement accessibles par la mesure ; d'autres, au contraire, sont accessibles de manière indirecte en combinant différentes variables directement accessibles par d'autres mesures ou d'autres sources d'informations. Il est intéressant de constater que certaines variables sont faciles à mesurer de manière destructive, mais très compliquées à obtenir de manière non destructive (comme la teneur en azote ou la biomasse). A contrario d'autre variables sont plus accessibles de manière non destructive comme l'efficacité d'interception du rayonnement photosynthétique. Dans cette partie nous discuterons de l'opportunité théorique de mesurer directement ou indirectement les variables évoquées. Afin de simplifier la lecture nous avons décidé de séparer les variables accessibles en 4 grandes catégories (Figure 3) :

- Les variables de structure : Ces dernières influencent énormément les mesures non destructives et sont par conséquent les plus faciles à obtenir.
- Les variables « biochimiques » : Ces variables interviennent dans le fonctionnement du couvert, mais ne sont pas toutes accessibles directement par la mesure.
- Les variables « agronomiques » : elles sont souvent facilement accessibles de la mesure destructive et sont liées de manière s plus ou moins forte aux variables des deux catégories précédentes.
- Les variables d'état : elles regroupent toutes les variables qui entrent difficilement dans les 3 catégories précédentes. C'est le cas par exemple de la température de surface ou de la

fluorescence, qui dépendent à la fois du contenu biochimique mais aussi de l'état de stress de la plante et des conditions microclimatiques précédent et pendant la mesure. Ces variables sont susceptibles de variation très rapide au cours de la journée, fonction des conditions microclimatiques locales.

Il serait également possible de proposer une cinquième catégorie correspondant aux indicateurs. Ils sont liés à une ou plusieurs des variables des 4 catégories précédentes, sans en être pour autant leur estimation directe. Créer un indicateur, souvent aussi appelé 'indice' est parfois la solution la plus pertinente pour exploiter un signal (une mesure) complexe.

1.2.4.1 Les variables de structure

Les variables de structure caractérisent la taille, la forme, la disposition et l'orientation des différents éléments du couvert.

- **Green Fraction ou Fraction de vert.** Cette variable dépend de l'angle d'observation, elle caractérise en pourcentage la quantité de vert dans une direction donnée. Cette variable est aisément calculable à partir d'une photographie. En effet il suffit de séparer les pixels représentant la végétation verte des autres. La proportion des pixels « verts » est la Fraction de vert.
- **FIPAR / FAPAR:** Fraction of intercepted/absorbed PAR (Photosynthetically absorbed radiation). Ainsi le FIPAR est la fraction de lumière interceptée par cette dernière. A contrario le FAPAR désigne la fraction absorbée dans le domaine spectral photosynthétiquement actif (400-700 nm). Les deux variables sont très liées et on estime que dans le cas général $FAPAR = 0.95 * FIPAR$ (K. P. Gallo & C. S. T. Daughtry 1986; K. Gallo et al. 1993; F. Baret & Guyot 1991). Schématiquement on peut dire que le FIPAR est la variable facilement accessible à la mesure, et que le FAPAR est la variable d'intérêt pour comprendre la physiologie de la plante.
- **ALA / LIDF:** Average Leaf angle ou Leaf inclination distribution function. Cette variable caractérise l'inclinaison des feuilles d'un couvert. Elle est importante à la fois d'un point de vue phénotypique et d'un point de vue mesure. En effet l'angle de la feuille va influencer la quantité de flux lumineux intercepté par la plante. Ainsi une même espèce a des angles foliaires différents en fonction des latitudes dans lesquels on la trouve (Herbert 1993). Cette variable influence fortement le signal spectral (Weiss et al. 2004).
- **LAI, PAI, GAI :** Leaf (Plant, Green) Area Index. Le LAI est défini comme la demi-surface de feuille par unité de surface de sol horizontal. Par extension, le PAI inclut tous les organes constituant les plantes d'un couvert. Cette précision est importante dans le cas de couvert de graminées où les tiges et les épis sont verts et peuvent contribuer au même titre que la feuille au signal spectral. Un deuxième terme, conçu pour inclure les organes verts mais exclure les parties sénescents a été proposé : c'est le GAI (Thomson et al. 1997; Leuning et al. 1998).
- **Clumping index ou facteur de groupage :** Le clumping est un anglicisme pour « agglomérer » ou « agréger ». Les plantes et les feuilles ne sont pas distribuées aléatoirement et ont souvent tendance à s'agglomérer. Il est possible de proposer des indices de clumping pour essayer de caractériser le phénomène (Nilson 1971).

1.2.4.2 Les variables biochimiques

Les variables biochimiques regroupent toutes les molécules ou familles de molécules contenues dans les organes du couvert et qu'il est possible de quantifier à distance. Pour cela, ces constituants doivent présenter des figures d'absorption à la fois suffisamment spécifiques et fortes.

- **Chlorophylle** : le contenu en chlorophylle peut être mesuré soit à l'échelle de la feuille, soit à celle du couvert. La mesure permet d'accéder à une quantité surfacique. L'unité d'un contenu est une masse par unité une surface. Ainsi pour la feuille on retrouve dans la littérature des $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ et au niveau du couvert ce sera plutôt $\text{g}.\text{m}^{-2}$.
- **Autres pigments** : De la même manière que pour la chlorophylle, d'autres pigments tels les caroténoïdes, les xanthophylles, les antocyanines peuvent être mesurés.
- **Contenu en eau**. Le contenu en eau des feuilles ou du couvert.
- **Contenu en matière sèche (ou masse surfacique)**. Il est exprimé en $\text{g}.\text{m}^{-2}$.

Les variables biochimiques accessibles directement de manière non destructive sont définies dans le modèle PROSPECT. Des tentatives d'obtenir d'autres variables : teneur en cellulose, saccharose, lignine, etc n'ont pas abouti (Th. Fourty et al. 1996). Nous avons volontairement exclu l'azote des variables biochimiques. En effet de par son caractère très intégratif nous pensons que c'est plutôt une variable agronomique.

1.2.4.3 Les variables « agronomiques »

Les variables agronomiques ont été définies par les agronomes afin de caractériser l'état du couvert, elles sont ainsi souvent très intégratives. Pour des raisons historiques ces variables sont toujours obtenues à partir de mesures destructives. Elles sont également les variables d'entrées des modèles agronomiques. Malheureusement, elles ne sont généralement pas accessibles directement par la mesure non destructive.

Les variables les plus utilisées sont :

- **Les variables du rendement**. Le rendement (**yield**) en quintaux par hectares, le **Harvest index** (ratio poids de grain, poids totale de la plante), et les composantes du rendement : le nombre de grains par épis, le nombre d'épis par mètre carré, ou le poids de mille grains. Ces variables sont mesurées dans tous les essais variétaux par des méthodes destructives.
- **La biomasse** : la biomasse représente la masse de la plante. Généralement, pour des raisons pratiques c'est la biomasse de la partie aérienne qui est mesurée de manière destructive. On distingue la biomasse sèche, de la biomasse sèche et de la biomasse en eau.
- **L'azote** : d'un point de vue agronomique c'est une variable fondamentale. En effet, une carence en azote est très préjudiciable pour le rendement. Ainsi **quantité d'azote absorbée par la plante, la concentration en azote des feuilles, la concentration en azote du couvert**, sont des variables très prisées par les agronomes. L'azote est facilement accessible de manière destructive notamment grâce à la méthode DUMAS (Dumas 1831). Elle consiste à brûler un échantillon et mesurer la quantité de N dégagé par le processus. C'est cependant une variable très intégrative car c'est le quatrième atome le plus représenté dans la plante après l'hydrogène le carbone et l'oxygène. L'azote est un constituant indispensable des acides aminés et se concentre ainsi majoritairement dans les protéines. Les protéines sont présentes à tous les niveaux des processus biochimiques et physiologiques de la plante. Ainsi l'azote peut être de structure, de stockage (généralement sous la forme de Rubisco), de transport, ou impliquée dans d'autres processus biochimiques. D'autres formes d'azote sont présentes dans la plante telle que les ions nitrates.

1.2.4.4 Les variables d'état

- **Fluorescence** : La fluorescence résulte de l'absorption de la lumière par une molécule à une certaine longueur d'onde, qui en réémet une partie à une longueur d'onde plus grande. La totalité des pigments sont capables de fluorescer. Ce phénomène se produit naturellement dans la feuille, mais peut être plus ou moins intense en fonction des stress subis. Cette variable est porteuse d'un grand nombre d'informations : état du système photosynthétique, stress, température ou contenu en chlorophylle ou autres pigments. Elle est par contre assez difficile à interpréter compte tenu du nombre importants de facteurs à prendre en compte.
- **L'infra-rouge thermique** : correspond à la mesure de la température de brillance du couvert dans l'infra-rouge thermique (8 mm - 14 mm). La plante transpire l'eau extraite du sol par les racines. Le changement de phase liquide-vapeur au niveau de la feuille est associé à une perte de chaleur latente qui abaisse ainsi la température de la feuille. En cas de stress hydrique, la feuille bloque les échanges gazeux en refermant ses stomates, et la température de la feuille augmentera. Le bilan d'énergie qui détermine la température de la feuille est donc étroitement lié au bilan hydrique de la plante. La température sera donc un indicateur du stress hydrique. Toutefois, la température sera très dépendante des conditions microclimatiques au moment de la mesure, et peut évoluer très rapidement en fonction de l'éclairement et des turbulences.

Les deux variables d'état décrites ici fournissent une information précieuse sur l'état de fonctionnement de la plante. Elles sont cependant difficiles à interpréter car elles évoluent rapidement en fonction de nombreux facteurs. Nous ne nous intéresserons pas à ces variables dans ce travail, car il nous semble pertinent d'avoir d'abord la mesure des variables de structure et biochimiques afin d'essayer d'interpréter les variables d'état.

1.2.4.5 Les indices

Il est possible de corréler un indicateur avec les variables qui nous intéressent citées précédemment. Toutefois ces relations peuvent être sous la dépendance de nombreux autres facteurs. Les indices sont cependant très utilisés notamment pour interpréter le signal radiométrique d'un couvert végétal. L'indice le plus connu est le NDVI : Normalized vegetation index. C'est le premier indice spectral mis au point pour interpréter le signal issu de l'observation satellitale de la terre. Il a été proposé par [Rouse 1974]. Sa formulation est : $NDVI = (\rho_{NIR} - \rho_{RED}) / (\rho_{NIR} + \rho_{RED})$ avec ρ_{NIR} et ρ_{RED} la réflectance respectivement dans le proche infra rouge et dans le rouge. De manière plus générale il existe des indices adaptés à l'estimation de différentes variables :

- Les indices sensibles à la chlorophylle tel le MTCI (Meris Terrestrial Chlorophyll Index) (Dash & P. J. Curran 2004), le TCARI/OSAVI (Haboudane et al. 2002), etc...
- Les indices sensibles à la structure du couvert (LAI, ALA, etc) tels le MCARI2 (Haboudane et al. 2004) ou le NDVI.
- Les indices sensibles à l'état physiologique de la plante (et ainsi au stress) tel le PRI (Gamon et al. 1997).

Ces indices sont souvent de très bons indicateurs. Ils posent cependant de nombreux problèmes comme celui de la linéarité de l'indicateur avec sa variable cible (Andrew D. Richardson et al. 2002).

1.2.5 Synthèse des travaux

La bibliographie concernant les études dont les résultats ou les méthodes sont potentiellement intéressantes pour le phénotypage haut débit sont nombreuses et ont été produites au sein de différentes communautés pour des applications diverses. Par contre il existe encore peu de travaux se focalisant sur le phénotypage au champ. Cela explique probablement l'intérêt récent dans la

publication d'article de synthèse sur le sujet, la synthèse étant d'autant plus aisée que la matière relativement rare!

TABEAU 1: CONTRIBUTION DES VARIABLES PHENOTYPIQUES ET MESURABLES A DIFFERENTS PROCESSUS DU FONCTIONNEMENT DE LA PLANTE

Variables	Photosynthèse	Allocation des assimilats	transpiration	respiration	Utilisation de l'azote
LAI					
FaPAR					
Chlorophylle					
Fluorescence					
Thermique					

Les traits phénotypiques mesurables décrits précédemment participent à plusieurs processus comme le montre le Tableau 1. Il est important de mesurer une multiplicité de variables pour mieux appréhender le fonctionnement global du couvert. La même observation peut être réalisée concernant les stress biotiques : un pathogène va affecter une série de processus qui influenceront de nombreux traits phénotypiques. Par exemple la fusariose va faire jaunir de manière prématurée l'épi entraînant une diminution prématurée de la fraction verte ainsi que du rendement. Dans cette thèse nous ne nous intéressons pas directement aux stress biotiques même si toutes les variables que nous chercherons à estimer peuvent être significativement affectées par un stress biotique. Il sera donc possible de réutiliser ce travail dans ce sens.

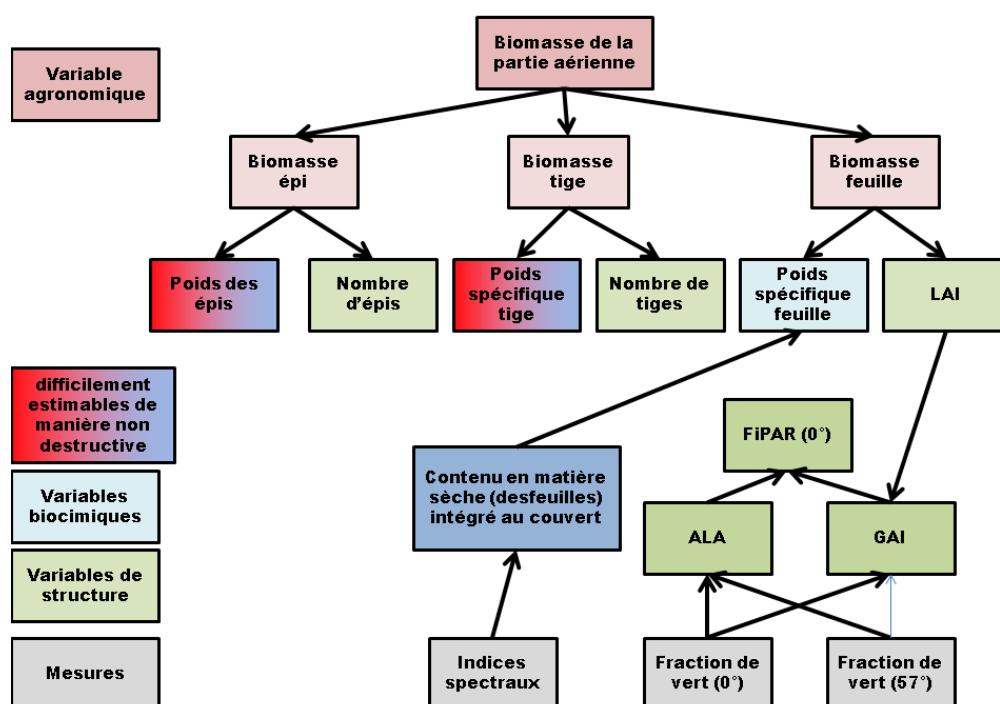


FIGURE 4: TENTATIVE DECOMPOSITION DES DIFFERENTS FACTEURS INFLUENÇANT LA VARIABLE AGRONOMIQUE « BIOMASSE » (DE HAUT EN BAS) ET TENTATIVE DE LIAISON AVEC DES VARIABLES MESURABLES DE MANIERE NON-DESTRUCTIVE (DE BAS EN HAUT). CE GRAPHE ESSAIE D'EXPLIQUE LES RAISONS POUR LESQUELLES OBTENIR UNE BIOMASSE DE MANIERE NON DESTRUCTIVE EST UN PROBLEME TRES COMPLIQUE ET PROBABLEMENT PAS SOLUBLE.

Un des enjeux de l'amélioration variétale est de lier le génome à la physiologie du blé, et ainsi lier les traits phénotypiques mesurables aux processus du fonctionnement. Pour cela il est important d'extraire les traits phénotypiques des différentes mesures réalisées.

Différents capteurs complémentaires acquièrent des données permettent de nourrir des modèles physiques qui offrent une description sommaire du couvert. Ces informations physiques sont ensuite transformées en informations biophysiques et enfin en variables physiologiques/agronomiques. Notons que cette procédure n'est pas spécifique au phénotypage haut débit au champ, mais devrait être usuelle à la fois en télédétection, qu'en agriculture de précision. Il est cependant tentant et parfois justifié de passer directement des mesures brutes des capteurs aux variables physiologiques/phénotypiques en utilisant des indices au travers de relations statistiques. Pour illustrer ces propos la Figure 4 montre comment une variable agronomique: la biomasse, intègre de nombreuses variables à la fois biochimiques (poids spécifique, ou matière sèche) et de structure (volume de tige, surface de feuille, nombre d'épis). Parallèlement la figure illustre les variables correspondantes que l'on peut mesurer de manière non destructive.

1.3 Objectifs de la thèse

Cette thèse a fait l'objet d'un financement CIFRE de la part d'Arvalis Institut du végétal. L'objectif initial était de mieux caractériser les parcelles de blé à distance et de manière non destructive en mettant l'accent sur la prise en compte des effets variétaux pour le pilotage des cultures. Avec la montée en puissance des demandes sur le phénotypage haut débit au travers de projets à portée nationale (PHENOBLE, PHENOME), la thèse s'est focalisée sur le développement d'outils et de méthodes adaptés à ces nouveaux besoins.

Pour cela il fallait dans un premier temps mettre en œuvre les techniques déjà éprouvées en télédétection. Cela nous a permis d'identifier les implications techniques et les verrous scientifiques existants pour essayer d'y répondre. C'est ce programme ambitieux qui a été entrepris dans ce travail de thèse. Ainsi dans une première partie nous décrivons des méthodes et un prototype pour réaliser des mesures de phénotypage haut-débit au champ, à l'échelle de l'organe et du couvert. Puis nous présenterons les avancées scientifiques sur un point particulier jusque là peu étudié : la caractérisation des propriétés directionnelles des feuilles de blé et leur modélisation en s'intéressant à leurs conséquences sur les différentes mesures optiques pour le phénotypage à haut débit.

2 Les avancées pratiques du phénotypage haut débit au champ

Au cours de cette thèse nous nous intéresserons aux différentes mesures possibles utilisant le spectre électromagnétique allant de 400nm à 2500nm. De nombreux capteurs utilisent cette gamme spectrale: les appareils photo numériques classiques (mesurant dans le rouge, le vert et le bleu), les spectromètres, les caméras hyper-spectrales. Nous présenterons rapidement les grandeurs physiques utilisées. Nous décrirons ensuite les principales mesures effectuées dans ce travail de thèse orienté vers le phénotypage haut débit. Nous évaluerons ensuite les caractéristiques et la qualité des méthodes d'interprétations permettant d'aller de la mesure à la variable phénotypique d'intérêt. Cela nous permettra d'évaluer l'héritabilité des traits phénotypiques mesurés dans une étude préliminaire. Enfin nous essayerons d'identifier toutes les améliorations nécessaires dans la chaîne de production des variables phénotypiques, aussi bien au niveau de l'acquisition qu'au niveau du traitement des données.

2.1 Les mesures optiques pour le phénotypage haut débit

2.1.1 Généralités sur les mesures « optiques »

Pour mesurer les propriétés réflectives d'un objet ou d'une surface dans le spectre électromagnétique allant de 400nm à 2500nm, il faut un système composé d'une source et d'un récepteur. Dans cette partie nous allons analyser rapidement les différentes alternatives pour réaliser de telles mesures, puis mettre en évidence les spécificités des mesures réalisées à l'échelle de l'organe (feuille) et à celle du couvert.

2.1.1.1 Sources et capteurs

Dans ce travail nous nous bornerons à l'étude des propriétés diélectriques des plantes, de sol, et des matériaux servant de références. Aucun de ces objets n'émet de rayonnement de manière significative dans la gamme spectrale étudiée (en dehors des phénomènes de fluorescence). Par contre ils peuvent réfléchir, transmettre et absorber un rayonnement incident. Ainsi tous les dispositifs étudiés dans ce travail sont caractérisés par une source lumineuse et un récepteur mesurant le flux lumineux réfléchi ou transmis par l'objet que l'on cherche à caractériser.

La source lumineuse fournit une onde électromagnétique ou un flux de photons, les deux concepts étant associés à des méthodes de calcul différentes. Dans ce travail nous considérerons principalement la source lumineuse comme émettant un flux de photons. Il serait cependant intéressant d'utiliser la polarisation de la lumière comme information supplémentaire sur l'objet étudié, qui doit être alors abordée au travers de la théorie électromagnétique. La source la plus classique en télédétection est le soleil. On parle alors de mesure 'passive'. Quand on utilise une source artificielle, on parle de mesure 'active'. De nombreuses technologies (lampe incandescente, lampe à arc xénon, LED ...) permettent de jouer à la fois sur la puissance émise, la directionnalité ainsi que la composition spectrale de la source.

Le récepteur désigne un système qui mesure un flux lumineux. Schématiquement il est composé d'un capteur sensible au flux lumineux et le transforme en signal électrique. Les capteurs les plus classiques sont les matrices CCD (Charge Coupled Device) ou CMOS, et les photodiodes. Le flux lumineux est ensuite converti en valeur numérique grâce à un convertisseur analogique-numérique. C'est cette valeur qui sera considérée comme le signal brut. Etant donné qu'un récepteur est en général sensible au nombre de photons reçus par unité de surface et de temps, la mesure sera sensible au temps d'exposition au flux incident.

Il est possible de jouer sur les caractéristiques spectrales de la source et du récepteur pour mesurer des phénomènes particuliers comme la fluorescence : le flux absorbé à une certaine longueur d'onde (celle de la source) sera alors réémis dans une longueur d'onde de plus grande longueur

d'onde (celle du correspondant au récepteur). De même il est possible de jouer sur les directions du capteur et de la source (quand elle est artificielle) pour mieux la cible.

2.1.1.2 Les configurations de mesures

Trois configurations permettent de décrire les propriétés du rayonnement incident ou réfléchi.

- La première configuration correspond à un **rayonnement complètement directionnel** reçu et réfléchi par un seul point. Dans les faits seul un laser s'approche de cette définition. Un miroir idéal est capable de réfléchir de manière complètement directionnelle un rayonnement lui-même directionnel. Pratiquement dans la communauté de télédétection, les chercheurs estiment que cette configuration est idéale et utile pour la modélisation. Toutefois, cette hypothèse de rayonnement ponctuel et collimaté dans les directions d'incidence et de réflexion n'est jamais entièrement vérifiée pour la mesure (Schaepman-Strub et al. 2006). Il suffit de deux angles pour définir chacune des directions : l'angle zénithal θ , défini dans un plan vertical, et l'azimut φ , défini dans un plan horizontal.
- La seconde configuration correspond à un **rayonnement conique**. C'est ce que délivre la plupart des sources lumineuses, et c'est aussi dans cette configuration que les récepteurs récupèrent la lumière pour la mesure. Dans ce cas on doit ajouter un angle solide ω caractérisant chaque direction.
- Le troisième type de rayonnement est un **rayonnement hémisphérique** ou diffus. On considère alors que le rayonnement provient de toutes les directions. Les trois configurations sont décrites dans la Figure 5.

En se basant sur ces configurations, il est possible de définir différentes grandeurs correspondant à une combinaison particulière de la configuration d'incidence et de réflexion. (Nicodemus 1977). Les différentes combinaisons utilisées dans cette thèse sont décrites ci-dessous :

- **BRDF** : Bi-Directional reflectance function, en français fonction de réflectance bidirectionnelle.. Nicodemus définit la BRDF (aussi noté f_r) comme le rapport entre la luminance (radiance en anglais) réfléchie dans un angle solide donné [$W m^{-2} sr^{-1}$] et l'éclairement incident (irradiance en anglais) en [$W m^{-2}$]. Ainsi la BRDF s'exprime en l'inverse de stéradian (sr^{-1}). Il est possible dans des conditions de laboratoire très rigoureuses de mesurer une BRDF, même si certains auteurs préfèrent dire que c'est une BCRDF (le C étant pour conical, ainsi l'angle solide est explicité). La BRDF est fonction de l'orientation de la source (θ_i, φ_i) , de l'orientation du capteur (θ_r, φ_r) et de la longueur d'onde λ .
- **BRF** : Bi-directional reflectance factor. Voici une traduction de la définition de Nicodemus : « Un facteur de réflectance est défini comme le rapport entre le flux réfléchi par la surface d'un échantillon et celui qui serait réfléchi dans exactement les mêmes configurations par une surface de référence idéale et parfaitement diffuse (lambertienne) éclairée par une source en tout point identique. ». La BRF est souvent noté ρ et est sans unité. Comme la BRDF elle est fonction de $(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r; \lambda)$. Les auteurs pointilleux ajoutent avec raison un angle solide à la fois pour la source ω_i et pour le récepteur ω_r . La plupart du temps la on se ramène à une mesure de BRF en utilisant une surface de référence. Si la surface de référence est considérée comme lambertienne (hypothèse qui souvent ne peut pas être faite) la BRF d'une surface, ρ_{surf} , peut se mesurer de la manière suivante :

$$\rho_{surf} = \frac{Signal_{surf}}{Signal_{réf\acute{e}rence}} \rho_{réf\acute{e}rence}$$

La BRF est reliée à la BRDF par le coefficient π : $\rho = \pi f_r$

- **HDRF** : Hemispherical Directional reflectance function . Qualifie la réflectance directionnelle d'un objet quand la source est hémisphérique. Cette mesure est sans unité. La HDRF peut à la fois être directement mesurée (via un éclairement diffus) ou calculée à partir de la mesure de la variation directionnelle de la BRDF ou de la BRF:

$$HDRF(\theta_r, \varphi_r) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} BRDF(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) \cos(\theta_r) \sin(\theta_r) d\theta_r d\varphi_r$$

Lorsque le ciel est nuageux et que l'on ne distingue plus les ombres, on peut considérer que le flux incident est hémisphérique.

- **DHRF** : Directional Hemispherical reflectance function. C'est la réflectance hémisphérique issue d'une source directionnelle. C'est typiquement la mesure issue d'une sphère intégrante utilisée pour mesurer les propriétés optiques des feuilles.

$$DHRF(\theta_i, \varphi_i) = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} BRDF(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) \cos(\theta_i) \sin(\theta_i) d\theta_i d\varphi_i$$

On peut noter que la loi du retour inverse de la lumière entraîne une réciprocité entre les directions de la source et de la visée:

$$BRDF(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = BRDF(\theta_r, \varphi_r; \theta_i, \varphi_i)$$

Si $(\theta_i, \varphi_i) = (\theta_r, \varphi_r) \xRightarrow{\text{alors}} DHRF(\theta_i, \varphi_i) = HDRF(\theta_r, \varphi_r)$

Dans le cas d'une surface lambertienne (hypothèse souvent utilisée à tort pour les références) on a de plus: $\forall(\theta, \varphi) \quad DHRF(\theta_1, \varphi_1) = HDRF(\theta_2, \varphi_2) = \rho(\theta_3, \varphi_3; \theta_4, \varphi_4)$

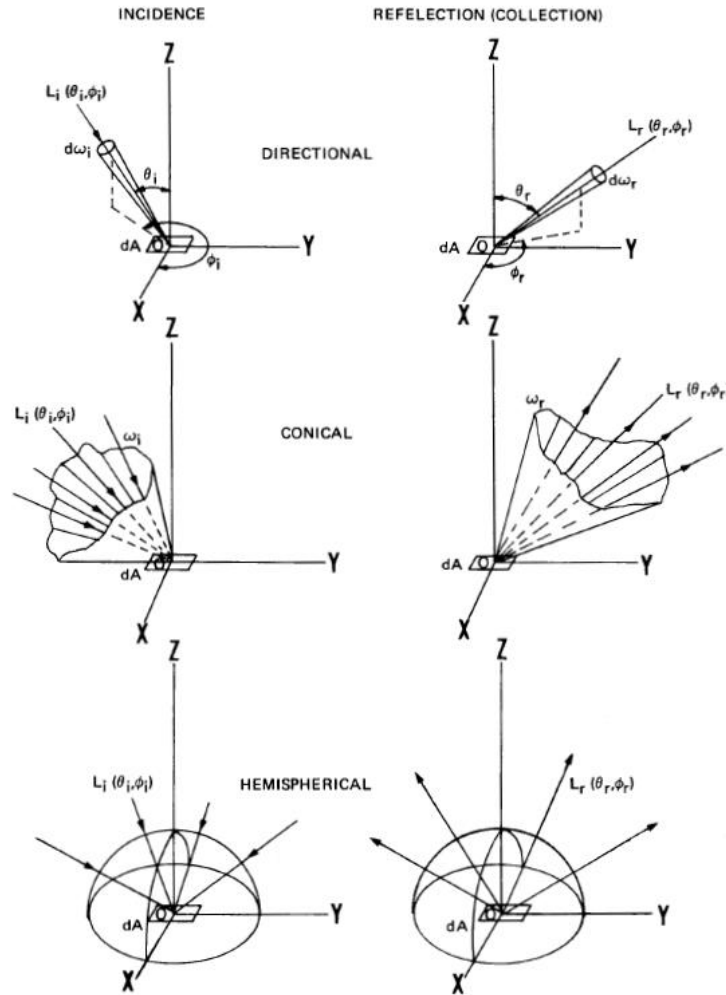


FIGURE 3. Designations for denoting incident and reflected (collected) beam geometry.

FIGURE 5: LES DIFFERENTES CONFIGURATIONS DE MESURES SELON NICODEMUS 1977.

2.1.1.3 Etalonnage des références

Dans la pratique, seules des mesures de BRF sont facilement réalisables, sauf dans le cas de mesures effectuées avec une sphère intégrante ou l'on accède à la DHRF. Dans ces deux cas il est nécessaire de disposer d'une surface de référence à la BRF ou DHRF parfaitement connue pour transformer le signal mesuré par le capteur en grandeur physique.

Différentes références peuvent être nécessaires pour réaliser des mesures de BRF ou de DHRF au niveau du couvert ou de la feuille. Une première référence doit être adaptée aux contraintes de la mesure au champ: elle doit être robuste, ne pas craindre les rayons du soleil et être facilement nettoyable. Une autre référence ayant à la fois des caractéristiques connues de réflectance et transmittance est nécessaire pour pouvoir notamment caractériser les spectres de feuilles. Dans les deux cas, afin de ne pas saturer le signal, les caractéristiques spectrales de la référence doivent être proches de celles des surfaces cibles c'est à dire de celle du couvert végétal ou de celle de la feuille

Les références doivent être le plus lambertienne possible afin de simplifier l'interprétation de la mesure quand la géométrie d'éclairement change. Or les surfaces utilisées comme référence et considérées comme les plus lambertiennes conservent des propriétés directionnelles fortes comme le montre la Figure 6. Il nous faut donc les caractériser pour pouvoir les corriger. Ainsi nous avons besoin de connaître la BRF pour toutes les directions d'incidence et de visée considérées lors de la mesure. Pour contraindre le problème nous considérerons que soit la source soit le capteur est au Nadir, et que la référence n'a pas d'anisotropie azimutale, ce qui est en général vérifié.

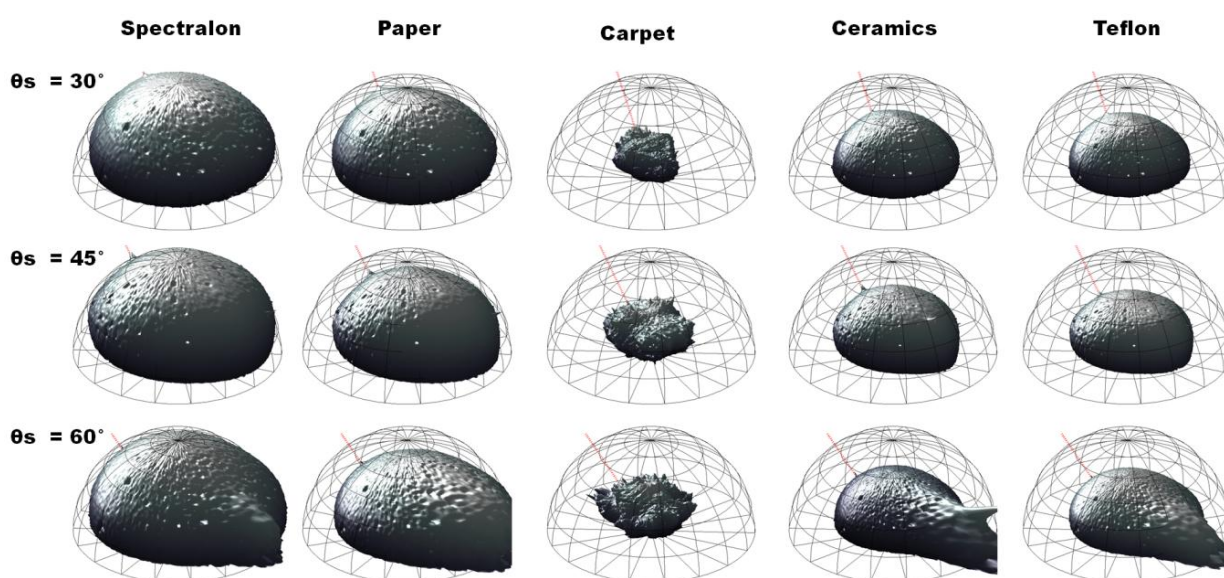


FIGURE 6: REPRESENTATION 3D DE LA BRF MESUREE POUR DIFFERENTES SURFACES POUVANT SERVIR DE REFERENCE. L'HEMISPHERE EN QUADRILLE CORRESPOND A UNE REFLECTANCE DE 1 (IE SURFACE COMPLETEMENT LAMBERTIENNE). ON PEUT NOTER QUE TOUTES LES SURFACES ETUDIEES : SPECTRALON, PAPIER, MOQUETTE, CERAMIQUE ET TEFLON DIVERGENT D'UNE REFERENCE PARFAITE.

Des surfaces de référence bien caractérisées par des laboratoires de métrologie et d'essai (LNE en France ; NIST aux Etats-Uni) sont disponibles. Ainsi une « référence de transfert » relativement onéreuse peut être acquise pour caractériser une « référence secondaire » utilisée en routine au champ ou pour la mesure de la réflectance des feuilles au laboratoire. Dans la plupart des cas, la référence de transfert est du spectralon caractérisé par sa DHRF. Pour plus de détails sur ces concepts, se référer à (Höpe & Hauer 2010) ou au « technical guide » de labsphere, fabriquant du spectralon, disponible sur leur site internet (www.labsphere.com). La BRF du spectralon dans différentes configurations est donc inconnue, on peut cependant citer les travaux de (Hsia & Weidner 1981) qui tendent à montrer que $DHRF \approx BRF(0^\circ, 45^\circ)$.

La caractérisation à la fois du spectralon et de la référence secondaire a été réalisée avec un goniomètre fabriqué localement. Ce système permet de mesurer la réflectance d'une surface dans différentes géométries de mesure. La Figure 7 montre les différents éléments du goniomètre utilisé. La procédure pour étalonner nos surfaces de référence s'effectue en deux temps:

1. Mesure directionnelle du spectralon avec la source toujours au Nadir (ou l'inverse). Le goniomètre permettant d'échantillonner la gamme angulaire $15^\circ \leq \theta \leq 65^\circ$.
2. Juste après réalisations des mêmes mesures sur la surface de référence pour le champ.

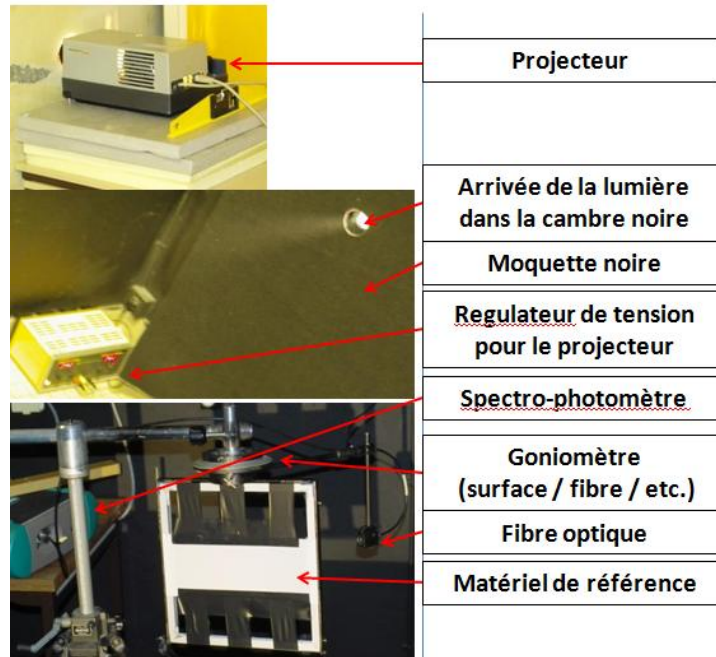


FIGURE 7: SCHEMA DE LA DERNIERE VERSION DU GONIOMETRE UTILISE POUR ETALONNER LES REFERENCES. LA LUMIERE ARRIVE VIA LE PROJECTEUR DANS LA CHAMBRE NOIRE. SOIT LA SURFACE (VARIATION D'ANGLE D'INCIDENCE), SOIT LA FIBRE (VARIATION D'ANGLE DE REFLEXION) CORRESPONDANT AU RECEPTEUR PEUVENT EFFECTUER DES ROTATIONS AFIN DE CHANGER LA CONFIGURATION DE MESURE.

Le traitement des données a été le suivant :

1. Le signal directionnel du spectralon enregistré par le spectromètre a été modélisé à l'aide des polynômes de Legendre pour calculer l'intégralité du signal.

$$Signal_{\lambda}(\theta) = \alpha(a + b\cos(\theta) + \frac{3}{2}c \cdot (\cos(\theta)^2 - 1) + \frac{d}{2}(5 \cdot \cos(\theta)^5 - 3 \cos(\theta)))$$

Les paramètres a, b, c, d sont ajustés aux mesures. θ est l'angle du récepteur par rapport au nadir.

2. Ce modèle est intégré angulairement pour en déduire un signal hémisphérique :

$$Signal_{\lambda}^{hemispherique} = \frac{\int_0^{\pi} Signal(\theta) \cdot \cos(\theta) \cdot \sin(\theta) d\theta}{\int_0^{\pi} \cos(\theta) \cdot \sin(\theta) d\theta}$$

Les propriétés des polynômes de Legendre permettent d'écrire :

$$Signal_{\lambda}^{hemispherique} = \alpha(a + (\frac{2}{3})b + (\frac{1}{4})c)$$

3. Ce signal moyen hémisphérique est comparé avec la DHRF du spectralon fourni par le constructeur, et permet de convertir le signal mesuré en BRF. Ainsi le coefficient de passage s'écrit :

$$Coeff_{\lambda} = \frac{HDF_{\lambda}}{Signal_{\lambda}^{hemispherique}}$$

Et la BRF est déduite du signal :

$$BRF_{\lambda}(0, \theta^\circ) = Signal_{\lambda}(\theta) \times Coeff_{\lambda}$$

Cette méthode nécessite de poser plusieurs hypothèses :

- La première est celle du principe d'Helmholtz ou de réciprocité ou du retour inverse de la lumière. Ce principe, vrai pour un rayon touchant une surface élémentaire est probablement faux sur notre système de mesure (ouverture de 8° de la fibre optique éloignée de 30 cm de la surface, rayons issus d'un projecteur non parfaitement collimaté, etc.). Cette hypothèse permet d'écrire en particulier : $HDRF(0^\circ) = DHRF(0^\circ)$.
- La seconde hypothèse suppose que la HDRF du spectralon est constante quelle que soit la direction d'incidence, hypothèse plausible selon (Weidner & Hsia 1981).
- La troisième hypothèse est que la modélisation paramétrique des polynômes de Legendre, qui simulent la variation directionnelle du signal soit correcte.

De nombreux problèmes que nous ne détaillerons pas ici ont été rencontrés sur ces hypothèses, et montrent que l'étape d'étalonnage d'une référence de terrain est toujours un exercice difficile.

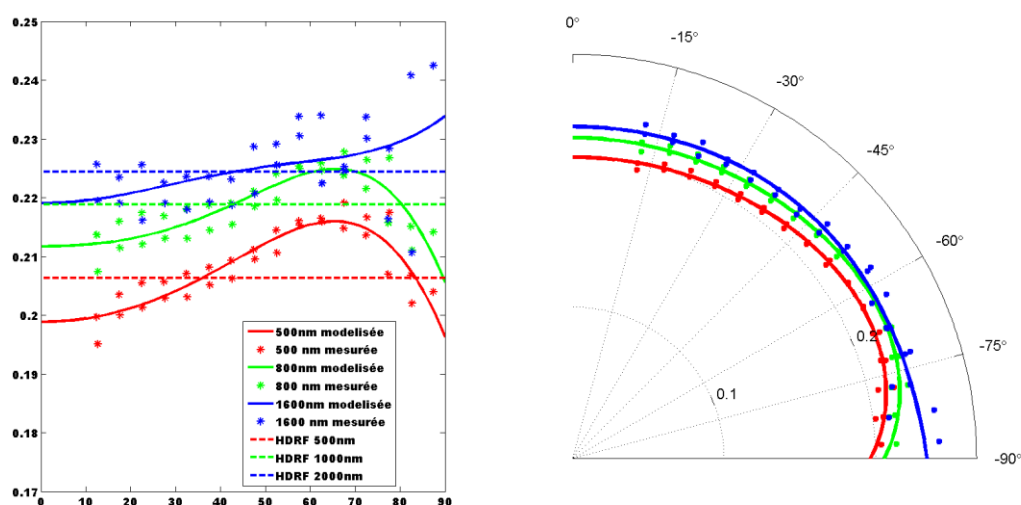


FIGURE 8 : EXEMPLE DE MESURES REALISEES AVEC LE GONIOMETRE "MAISON" SUR LA MOQUETTE DE REFERENCE UTILISEE POUR LA CAMPAGNE 2011 ET 2012 A TOULOUSE.

La première surface référence que nous avons utilisée est une plaque de PVC que nous avons spécialement poncé afin de la rendre plus matte (et donc plus lambertienne). Malheureusement elle a été détruite après la première campagne de mesure et nous avons ensuite décidé d'utiliser de la moquette grise. Cette dernière présentait une meilleure lambertiannité mais les mesures effectuées ne respectaient pas parfaitement le principe d'Helmholtz. Dans tous les cas comme le montre bien la Figure 8, aucune référence n'est parfaite, mais il est possible de bien décrire leur BRDF, ce qui est nécessaire et suffisant.

2.1.2 Les mesures sur feuille

Considérons deux dispositifs de mesure correspondant à des configurations utilisées dans mon travail de thèse représenté sur la Figure 9.

- Le premier est constitué d'une sphère intégrante permettant de réaliser des mesures en réflectance et en transmittance.
- Le second est constitué d'une pince permettant d'éclairer la feuille au nadir et de mesurer le signal réfléchi ou transmis à l'aide d'une fibre positionnée à 45° d'angle zénithal à la fois en réflectance et en transmittance.

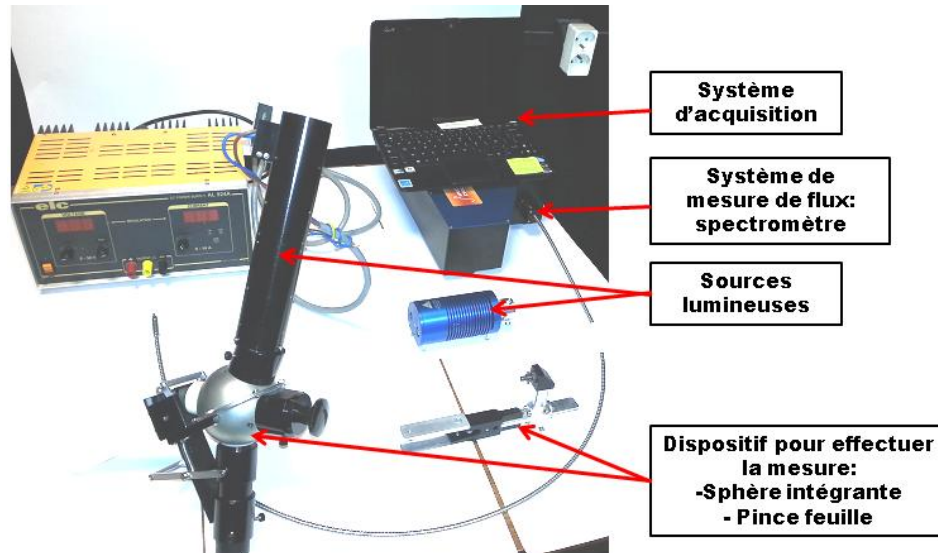


FIGURE 9: DISPOSITIFS DE MESURE DES FEUILLES UTILISÉS AUX COURS DE MES TRAVAUX DE DOCTORAT

Dans le cas de la sphère intégrante, on mesure soit une DHRF (pour la réflectance) soit une DHTF (Directional Hemispherical Transmittance Factor pour la transmittance). Cette configuration de mesure présente l'immense avantage de pouvoir calculer l'absorbance, $A(\lambda)$, de la feuille grâce à la loi de conservation de l'énergie:

$$A(\lambda) = 1 - DHRF(\lambda) - DHTF(\lambda)$$

Il est cependant intéressant de noter que l'absorption peut varier en fonction de la direction de la source. À notre connaissance, aucune étude sur le sujet n'a encore été menée. L'étalonnage de la sphère intégrante en réflectance est relativement aisée et standardisée : une surface de référence (aujourd'hui le spectralon commercialisé par Labsphere qui est du polytétrafluorethylène (PTFE) est la surface de référence utilisée par la majorité des chercheurs) est mesurée et à une HDRF connue. Il suffit alors de corriger le signal en réflectance par :

$$DHRF_{feuille}(\lambda) = \frac{S_{feuille}^{reflectance}(\lambda)}{S_{standard}^{reflectance}(\lambda)} * HDRF_{standard}(\lambda)$$

Cependant il existe différentes méthodologies pour calibrer l'appareil en transmittance. Le méga projet Spectranomics (<http://spectranomics.stanford.edu/>) qui a pour but d'enregistrer le spectre des feuilles de toutes les plantes tropicales, déplace la source de la sphère qui était en position verticale en réflectance en position verticale en transmittance. Ainsi la formule précédente fonctionne toujours car le signal de référence est enregistré en réflectance et le signal de la feuille en transmittance :

$$DHTF_{feuille}(\lambda) = \frac{S_{feuille}^{transmittance}(\lambda)}{S_{standard}^{reflectance}(\lambda)} * HDRF_{standard}(\lambda)$$

C'est ici la même source lumineuse qui est utilisée dans la même configuration pour les deux mesures.

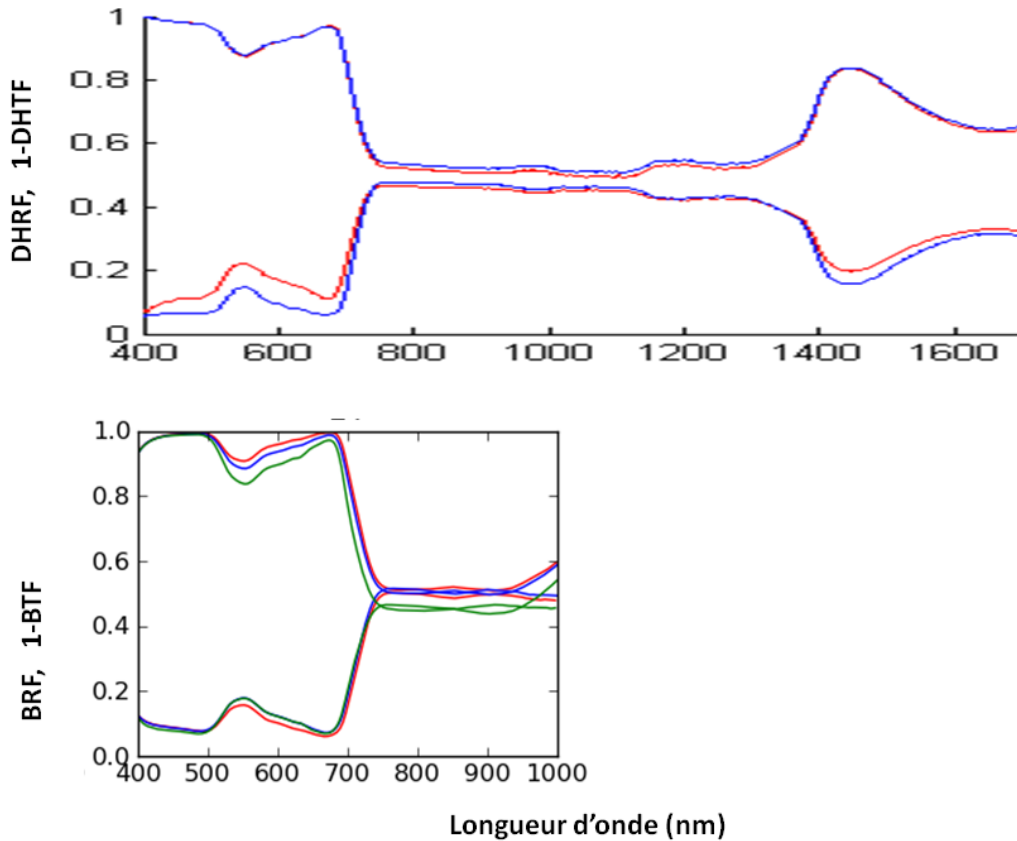


FIGURE 10: ILLUSTRATION DE LA DIFFERENCE ENTRE DHRF ET BRF. DANS LA FIGURE DU HAUT, LES SPECTRES DE DHRF ET 1-DHRF SONT ISSUS D'UNE FEUILLE D'ABRICOTIER SONT ACQUIS A L'AIDE D'UNE SPHERE INTEGRANTE LICOR ET D'UN SPECTROMETRE LABSPEC (ASD). EN BLEU FIGURE LE SPECTRE MESURE SUR LA FACE SUPERIEUR, EN ROUGE SUR LA FACE INFERIEUR. IL EST INTERESSANT DE NOTER QUE L'ABSORBANCE N'EST PAS LA MEME DANS LES DEUX CAS. DANS LA FIGURE DU BAS LES SPECTRES DE BRF ET 1-BTF SONT ISSUS DE TROIS POSITION DIFFERENTES SUR UNE FEUILLE DE BLE SONT ACQUIS A L'AIDE DE LA PINCE ET D'UN SPECTROMETRE JAZ (OCEAN OPTICS). REMARQUEZ COMMENT A CERTAINES LONGUEURS D'ONDES $BRF + BTF > 1$, CHOSE IMPOSSIBLE EN DHRF ET DHTF.

L'approche que nous avons adoptée est différente : on se base sur une référence étalonnée en transmittance par nos soins en utilisant le travail de (Verney-Carron 2002). Dans ce cas nous réalisons une mesure de référence et connaissons la HDTF de la référence. On peut alors calculer la DHTF de l'échantillon :

$$DHTF_{feuille}(\lambda) = \frac{S_{feuille}^{transmittance}(\lambda)}{S_{standard}^{transmittance}(\lambda)} * HDTF_{standard}(\lambda)$$

Dans le cas de la pince, nous mesurons des BRF et des BTF (Bi-directional Transmittance Distribution Function). Dans ce cas, il n'est pas possible de calculer une absorbance, la loi de conservation de l'énergie ne s'appliquant pas à des flux directionnels comme démontré sur la Figure 10. Cette pince a l'avantage d'être plus facilement transportable au champ. Une mesure de BRF de la référence est effectuée pour transformer le signal en grandeur physique.



FIGURE 11: PINCE SPECTROCLIP D'OCEAN OPTICS QUI INTEGRE DE MINI SPHERE INTEGRANTE POUR REALISER DES MESURES DE DHRF ET DE DHTF SUR LA FEUILLE. MALHEUREUSEMENT CETTE PINCE N'EST PAS ENCORE AU POINT: NOUS L'AVONS TESTE ET N'AVONS PAS REUSSI A OBTENIR UN SPECTRE DE FEUILLE EXPLOITABLE.

Notons que des entreprises telles qu'Ocean optics (www.oceanoptics.com) ont développé des pinces permettant la mesure hémisphérique des propriétés foliaires. J'ai eu l'occasion de les tester et de m'apercevoir qu'elles souffrent de nombreuses déficiences. En effet une sphère intégrante nécessite un flux lumineux très important. Il faut ainsi être capable de dimensionner correctement à la fois la sphère intégrante, la source et le récepteur ce qui n'était pas le cas du système testé.

2.1.3 Les mesures spectro-radiométriques à l'échelle du couvert

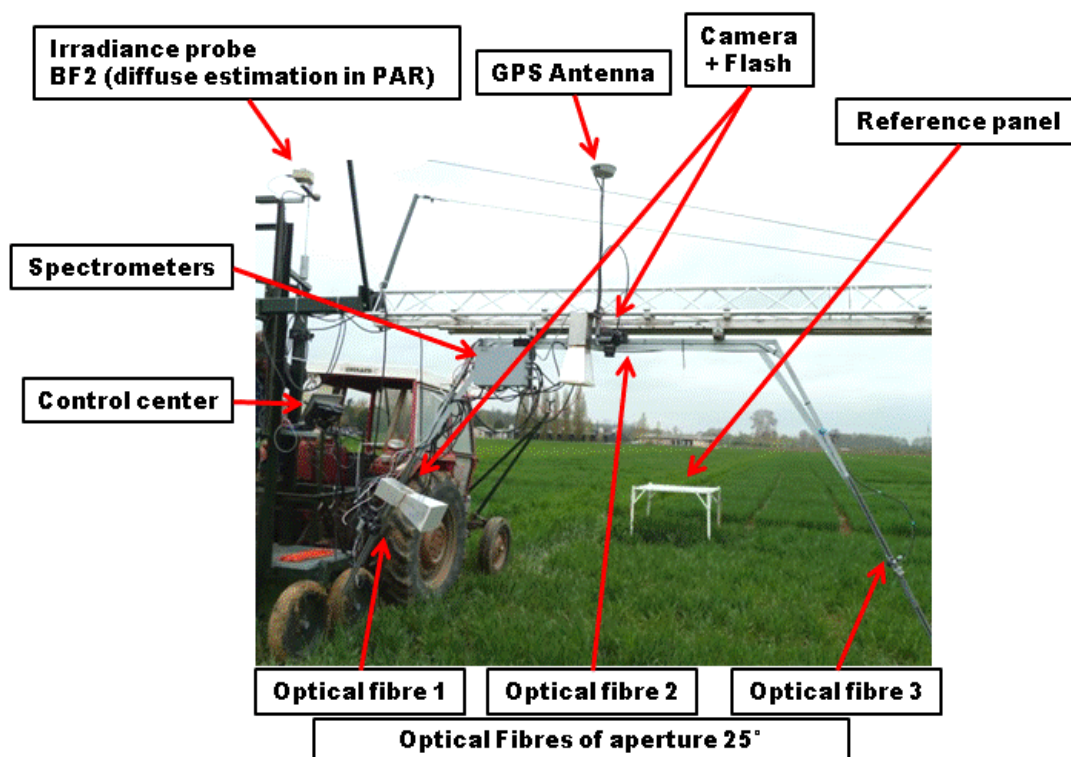


FIGURE 12: IMAGE DECRIVANT LE DISPOSITIF DE MESURE BAPTISE « PHENOARCHE » QUI A SERVIT A L'ACQUISITION DES MESURES A L'ECHELLE DU COUVERT.

Les mesures à l'échelle du couvert présentent différentes difficultés qui m'ont occupé pendant une bonne partie de ma première année de thèse. L'étalonnage du spectromètre doit prendre en compte la directionnalité du rayonnement incident qui est en partie (ou complètement) diffusé par l'atmosphère. Il faut donc être capable de caractériser la fraction diffuse associée à chacune des

mesures. Une autre difficulté a été d'automatiser la procédure d'acquisition et de nommage des fichiers, en se basant sur le positionnement de l'arche. Il est à noter que je ne me suis occupé de manière très modeste de la partie « acquisition photo » qui a été prise en charge majoritairement par Benoit de Solan.

La PhénoArche est le premier prototype expérimental développé pour réaliser des mesures sur des micro-parcelles au champ. Il est composé d'un vecteur : un tracteur tirant un charriot sur lequel une arche supportant les capteurs est posée sur un rail horizontal à environ 1.5 m au-dessus du couvert. Les capteurs constitués par des appareils photographiques numériques RGB fonctionnant avec flashes (système actif), et de spectrophotomètres reliés à des fibres utilisant la lumière ambiante. Un GPS RTK (précision centimétrique) permet de connaître précisément la position des mesures et de les déclencher automatiquement à l'approche d'une position de mesure préalablement définie. D'autres capteurs permettent de prendre en compte l'environnement dans lequel l'arche évolue. Un système d'acquisition permet d'enregistrer automatiquement les différentes mesures du système. Notons que le traitement des données n'est pas réalisé lors de l'acquisition mais lors d'une phase de post-traitement. Le système tel qu'utilisé à Toulouse lors des campagnes 2011 et 2012 est représenté sur la Figure 12. Détaillons plus précisément les trois principales composantes du système : le vecteur, les capteurs et le système d'acquisition.

2.1.3.1 Le vecteur

Le vecteur est composé d'un tracteur et d'un charriot sur lequel une arche peut être fixée et se déplacer latéralement le long du rail horizontal. Le vecteur n'est pas du tout automatisé : il faut conduire le tracteur, ajuster la hauteur du rail et déplacer l'arche sur le rail horizontal pour qu'elle soit latéralement bien positionnée par rapport aux parcelles. Un deuxième prototype a été construit pour équiper la plateforme expérimentale de Chalons sur Saône. Ce deuxième prototype est composé de deux arches qui sont contrôlées par un seul système d'acquisition.

2.1.3.2 Les capteurs

On distingue deux types de capteurs: les capteurs de phénotypage et les capteurs auxiliaires permettant de caractériser l'environnement dans lequel évoluent les capteurs de phénotypage. Il est cependant important de posséder toutes ces informations pour interpréter les mesures.

Les capteurs de phénotypage sont constitués

- de deux appareils photos numériques couleur, l'un au Nadir l'autre à 57° fonctionnant à l'aide de flashes diffusants.
- de 3 spectrophotomètres disposés au Nadir et à 57° de part et d'autre de l'arche. Les mesures à 57° sont conçues pour mesurer perpendiculairement à l'axe de semis. Cela permet de limiter les effets de structures du couvert sur la mesure.

Les capteurs auxiliaires sont les suivants :

- un GPS pour le positionnement et le déclenchement des mesures,
- un spectrophotomètre mesurant l'irradiance du ciel,
- un BF2 caractérisant la fraction diffuse de l'éclairement.
- un inclinomètre pour vérifier l'inclinaison des capteurs
- un anémomètre pour vérifier la force du vent

Notons que les deux derniers capteurs auxiliaires ont été ajoutés pour la saison 2012.

2.1.3.3 Le système d'acquisition

Le système d'acquisition a été mis au point par Fabrice Daumard de l'équipe Fluorescence du Laboratoire de Météorologie Dynamique et s'appelle « AcqPhen ». Il consiste à déclencher automatiquement des mesures lorsque l'arche est positionnée à un endroit prédéfini dans la

parcelle. Il permet donc une certaine communication entre les différents capteurs via un ordinateur. Les données acquises sont enregistrées de manière claire et traçable pour pouvoir être facilement exploitées. Le système gère également la synchronisation des appareils photos avec le flash, et la procédure d'étalonnage des spectromètres.

Même si l'acquisition est entièrement automatisée, il faut qu'un opérateur surveille le processus car le système étant fragile, un câble déconnecté, une surtension ou un bug peut se produire à tout moment. De plus, la position de l'Arche par rapport au rail n'est pas gérée automatiquement : il faut donc vérifier son positionnement régulièrement. C'est pour ces raisons que nous considérons l'acquisition comme « semi-automatique » : normalement le système d'acquisition gère automatiquement l'ensemble de la procédure, mais un opérateur est obligé de vérifier le bon déroulement de cette dernière.

2.1.3.4 La chaine de « post traitement »

La chaine de post traitement est la partie sur laquelle j'ai le plus travaillé. Elle consiste à transformer les mesures brutes (signal du capteur) en grandeurs physiques (BRF) puis en variables plus directement utilisables pour le phénotypage tels que des indices. Nous ne nous étendrons pas ici sur le traitement des images issues des appareils numériques. Ce dernier consiste en une procédure de classification automatique des pixels verts, permettant ainsi de mesurer les fractions vertes à 0° et à 57°. Le signal mesuré par les spectro-radiomètres est convertit en une BRF qui permet de comparer les propriétés optiques du couvert malgré de très fortes variations du rayonnement incident. La procédure d'étalonnage est la suivante : le spectromètre de l'arche au nadir réalise une mesure au dessus de la surface de référence (une moquette) qui possède une réflectance $R_{actuelle}^{reference}$. Cette dernière est composée de la somme entre la $HDRF_{reference}$ et la $BRF_{reference}$ qui prend en compte l'angle zénithal du soleil θ_s pondérée par la fraction diffuse F_{diff} :

$$R_{actuelle}^{reference}(Nadir, \theta_s, \lambda) = F_{diff}(\lambda) \times HDRF_{reference}(\lambda) + (1 - F_{diff}(\lambda)) \times BRF_{reference}(\lambda)$$

Avec λ la longueur d'onde.

La mesure de BRF du couvert peut ainsi se déduire :

$$BRF_{actuelle}^{couvert}(\theta_v, \varphi_v, \theta_s, \varphi_s, \lambda) = Cal_{57}(\lambda) \frac{Signal_{couvert}^{fibre}(\lambda)}{Signal_{couvert}^{irradiance}(\lambda)} \frac{1 Signal_{reference}^{irradiance}(\lambda)}{Signal_{reference}^{fibre_Nadir}(\lambda)} BRF_{actuelle}^{reference}(Nadir, \theta_s, \lambda)$$

Avec :

- Cal_{57} l'inter-calibration des fibres par rapport à celle au Nadir, ce coefficient vaut 1 pour la fibre au nadir et est déterminé expérimentalement pour les deux fibres à 57°. Ce coefficient dépend des aléas de construction des spectromètres ainsi que des rayons de courbure et de la longueur des fibres.
- $Signal_{reference}^{fibre_Nadir}(\lambda)$ est le signal de la fibre au nadir mise sous la référence
- $Signal_{reference}^{irradiance}(\lambda)$ est le signal de la fibre en irradiance possédant un diffuseur à son extrémité.
- $BRF_{actuelle}^{reference}(Nadir, \theta_s, \lambda)$ est la valeur de la BRF de la référence pour une visée au nadir.

La $BRF_{actuelle}^{couvert}(\theta_v, \varphi_v, \theta_s, \varphi_s, \lambda)$ dépend des configurations de mesures et de la position du soleil. Afin de s'affranchir de la dépendance à la position du soleil et de pouvoir comparer les mesures effectuées sur les différentes micro-parcelles (avec jusqu'à deux heure de différences entre les temps d'acquisition) des hypothèses doivent être posées. Initialement nous voulions prendre en compte des caractéristiques de l'ensoleillement au travers d'un modèle de transfert radiatif. C'est en effet la méthode la plus propre. Nous avons cependant choisi dans un premier temps de gommer

l'effet de l'éclairement en utilisant des méthodes plus empiriques. Ainsi nous avons décidé d'utiliser des indices normalisés qui ont été optimisés pour être relativement insensibles à cet effet.

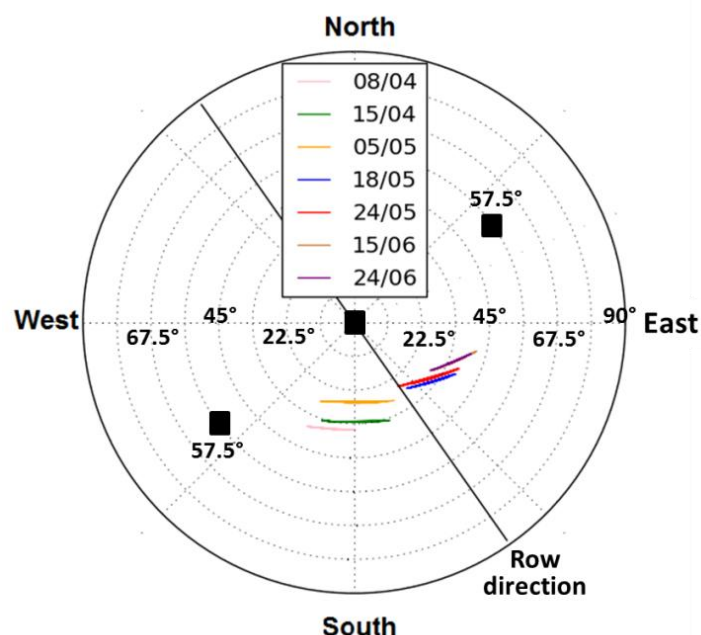


FIGURE 13: DESCRIPTIONS DE LA CONFIGURATION GEOMETRIQUE DES MESURES LORS DE LA CAMPAGNE TOULOUSE 2011. LES CARRÉS NOIRS REPRESENTENT LE POSITIONNEMENT DES FIBRES, LA LIGNE NOIRE LE SENS DES MICRO-PARCELLES (SENS DU SEMI) ET LES LIGNES DE COULEURS LA POSITION DU SOLEIL PENDANT TOUTE LA DUREE DE L'ACQUISITION.

Afin de sélectionner les indices les plus pertinents, nous avons dans un premier temps sélectionné les indices de la bibliographie ayant le plus de potentiels pour caractériser une variable (contenu en chlorophylle, LAI) d'intérêt. Cette sélection bien que rigoureuse ne peut être exhaustive car la littérature regorge d'indices. Une comparaison des différents indices à l'aide de nos mesures a ensuite été menée (Figure 14). L'indice MCARI2 (Haboudane et al. 2004) a finalement été sélectionné comme indicateur de la surface foliaire et le MTCI (Dash & P. J. Curran 2004) comme indicateur de la teneur en chlorophylle. Deux autres indices nous ont interpellés car fournissant une information originale : le CRIGreen (A. A. Gitelson et al. 2006) ainsi que le PRI (Gamon et al. 1997).

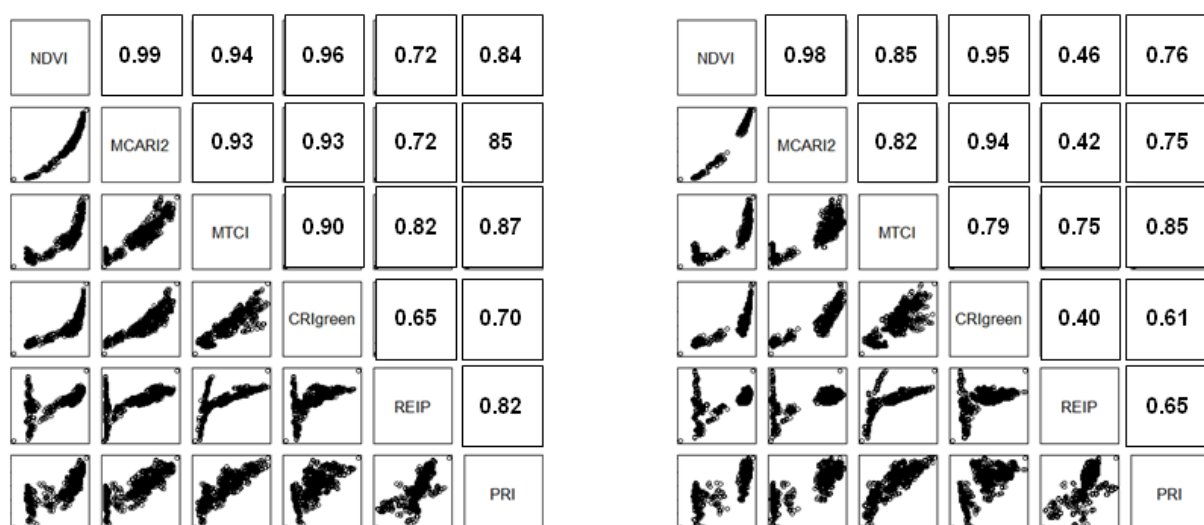


FIGURE 14: CORRELATION ENTRE LES DIFFERENTS INDICES SELECTIONNES DANS LA PRE-ETUDE. LES CHIFFRES CORRESPONDENT A LEUR CORRELATION SUIVANT LE COEFFICIENT DE SPEARMAN (CORRELATION PAR RANG)

La chaîne de traitement des données 2012 inclut une procédure pour éliminer automatiquement les mesures réalisées avec un vent supérieur à 30km/h. Cela a été possible grâce à l'installation de l'anémomètre. En effet le vent perturbe l'architecture du couvert de blé et fausse les mesures.

2.2 L'estimation des constituants biochimiques à l'échelle de l'organe

Dans cette partie nous nous focaliserons la feuille qui est le siège principal de la photosynthèse du couvert et qui est aussi l'organe le mieux 'vu' par les capteurs de phénotypage utilisés ici.

2.2.1 Application aux problématiques du phénotypage haut débit

L'estimation de la teneur en constituants biochimiques à l'échelle de la feuille à l'aide de mesures spectrales a été discutée en introduction. Très peu d'études se sont intéressées à vérifier le fait que les estimations soient pertinentes avec la problématique du phénotypage haut débit. La plupart des travaux relatifs à la réflectance des organes pour le phénotypage (Zhao et al. 2012; Munns et al. 2010) ne discutent pas la stabilité des estimations en fonctions des variétés d'une même espèce, à l'exception de (Fritschi & Ray 2007).

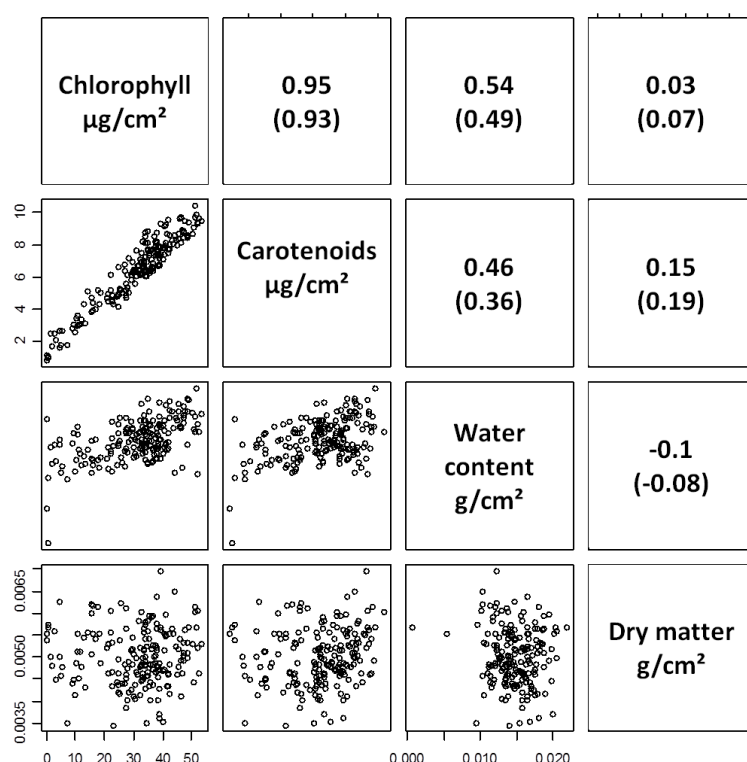


FIGURE 15: CORRELATIONS ENTRE LES VARIABLES OBTENUES DE MANIERE DESTRUCTIVE ET ESTIMABLE VIA PROSPECT. LES CORRELATIONS CORRESPONDENT AU COEFFICIENT DE PEARSON ET ENTRE PARENTHESES AU COEFFICIENT DE SPEARMAN (CORRELATION PAR RANG).

Nous avons ainsi essayé d'évaluer la pertinence d'inverser un modèle basé sur des principes physiques : PROSPECT (S. Jacquemoud & F. Baret 1990) pour le phénotypage des feuilles de blé. Ainsi 312 feuilles issues de 6 variétés ont été analysées. D'abord les relations destructives entre les constituants biochimiques (Chlorophylle, caroténoïdes eau et matière sèche). En effet si les constituants sont très corrélés il sera difficile de les dissocier dans l'inversion du modèle. Ensuite les effets de compensation entre les différents constituants biochimiques dans le signal spectral et donc dans l'inversion sont étudiés. Enfin la capacité à détecter des différences entre variétés et en

comparaison avec les mesures destructives est explorée. Cette étude a fait l'objet d'une soumission dans le journal *Plant Methods* sous le titre « *Using PROSPECT model to retrieve leaf traits from leaf measurements in wheat phenotyping experiments* » et figure en annexe.

Dans un premier temps les variables obtenues de manière destructive et très corrélées entre elles ont été identifiées. Les contenu en eau, contenu en matière sèche et contenu en chlorophylle apparaissent relativement indépendants. Par contre, le contenu en caroténoïdes s'est avéré très corrélés au contenu en chlorophylle. Il est donc probablement inutile d'essayer de les distinguer. En effet ces deux variables biochimiques sont intrinsèquement imbriqués dans le système photosynthétique. On peut donc supposer que la variabilité au sein de l'espèce « blé » du rapport chlorophylle sur caroténoïde est très faible. Il est ainsi pertinent de sélectionner une version de PROSPECT qui ne différencie pas ces deux pigments. C'est le cas de PROSPECT 3 et de PROSPECT 4.

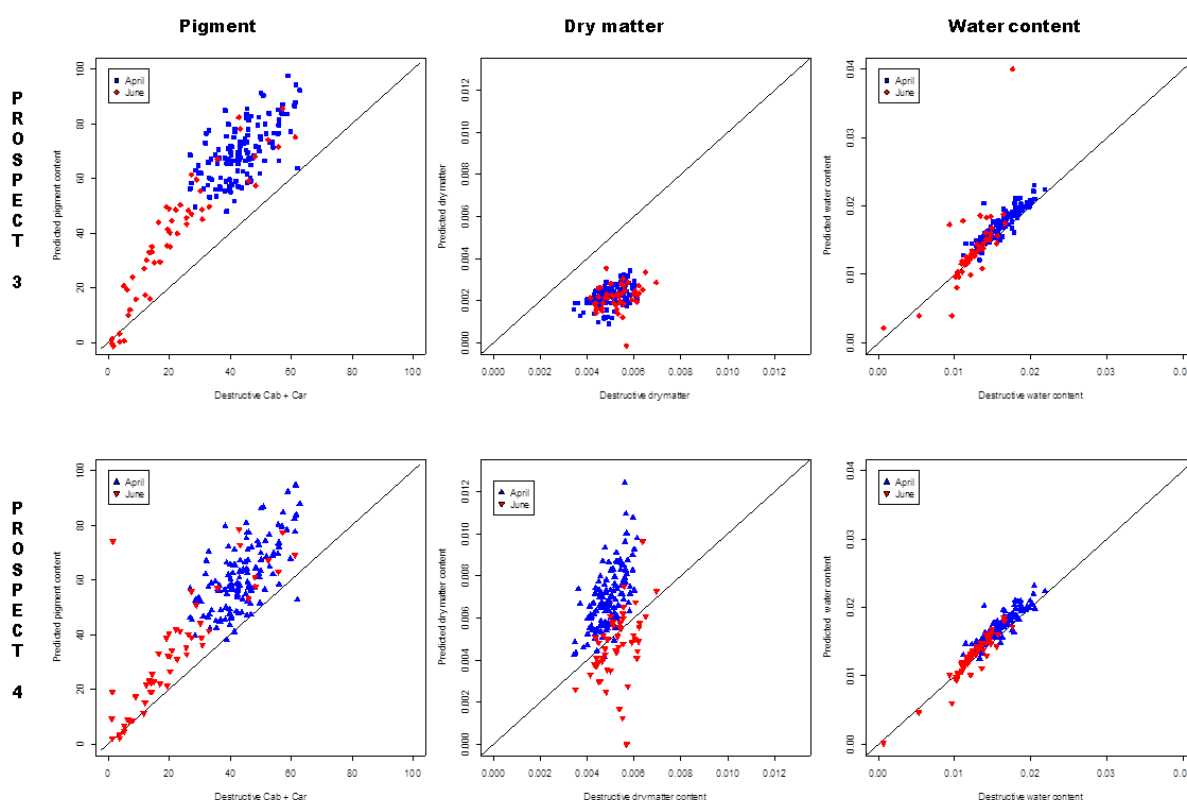


FIGURE 16: ESTIMATIONS VIA MESURES DESTRUCTIVES. LES FEUILLES MESUREES EN AVRIL (FLORAISON) SONT EN BLEU, CELLES MESUREES EN JUIN (REMPLISSAGE) EN ROUGE. CELA PERMET DE CONSTATER QUE LES ESTIMATIONS PROBLEMATIQUES SONT RARES ET LIEES A DES PATRONS DE SENESCENCES MAL PRIS EN COMPTE DANS PROSPECT.

Les principaux résultats sont résumés ci-dessous :

- La qualité de l'inversion est généralement bonne lorsque la feuille est en bonne santé. Elle se dégrade pendant la sénescence et la prise en compte des « pigments bruns » améliore la qualité de l'inversion. Ces pigments, des polyphénols, apparaissent en effet quand la feuille entre en sénescence.
- Les inversions de PROSPECT 3 et de PROSPECT 4 surestiment la teneur en chlorophylle de respectivement 50% et 30% Figure 16. Il est probable que les propriétés optiques des feuilles de blé, feuille monocotylédone, diffèrent de la majorité des feuilles de dicotylédones sélectionnées pour l'étalonnage du modèle PROSPECT (Th. Fourty et al. 1996; Feret et al. 2008). Une lecture attentive des travaux de (Feret et al. 2008) montre déjà cet effet de surestimation sur un jeu de donnée de feuilles tropicales.

- Concernant l'estimation de la matière sèche, des effets de compensations entre les différents paramètres de PROSPECT 4 empêchent d'obtenir des résultats cohérents. Cette compensation est moins forte pour PROSPECT 3. Cependant l'estimation souffre d'un biais et n'est pas très précise.
- L'estimation du contenu en eau ne semble ne pas poser de problèmes. Les figures d'absorption de l'eau sont très caractéristiques et très fortes.

Une question complexe perdure : PROSPECT permet-il de voir les mêmes différences que les mesures destructives? Deux stratégies peuvent être adoptées pour répondre à cette question :

- Une comparaison exhaustive et rigoureuse sur un grand jeu de données de la qualité des estimations, variété par variété pour voir si les biais sont identiques.
- La comparaison des différences trouvées entre variétés à la fois pour les mesures destructives que pour les mesures non destructives.

J'ai choisi la seconde stratégie qui permet de cibler la comparaison à ce qui nous intéresse in-fine : le phénotypage et l'identification des différences variétales. La Figure 17 montre des résultats encourageants : non seulement PROSPECT 4 identifie les mêmes différences que les mesures destructives et ces différences apparaissent plus significatives d'un point de vue statistique.

Chlorophyllian pigments						
Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		17.4 (0.00)	9.3 (0.06)	3.4 (0.90)	8.1 (0.15)	6.3 (0.40)
Biensur	7.62 (0.03)		-8.1 (0.15)	-13.9 (0.00)	-9.3 (0.06)	-11.0 (0.01)
Caphorn	2.89 (0.84)	-4.7 (0.40)		-5.8 (0.49)	-1.2 (1.0)	-2.9 ()
Hysun	0.0 (1.0)	-7.62 (0.03)	-2.9 (0.85)		4.6 (0.72)	2.9 (0.95)
Isildur	2.3 (0.93)	-5.29 (0.27)	-0.6 (1.0)	2.3 (0.93)		-1.8 (0.99)
Soissons	1.5 (0.99)	-6.1 (0.13)	-1.3 (0.99)	1.5 (0.99)	-0.8 (1.0)	

Dry Matter						
Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		0.0022 (0.00)	0.0006 (0.63)	-0.0006 (0.66)	0.0008 (0.28)	-0.0002 (0.99)
Biensur	0.0004 (0.21)		-0.0016 (0.00)	-0.0027 (0.00)	-0.0014 (0.00)	-0.0024 (0.00)
Caphorn	0.0001 (0.99)	-0.0003 (0.56)		-0.0011 (0.03)	0.0002 (0.99)	-0.0008 (0.24)
Hysun	-0.0005 (0.01)	-0.0009 (0.00)	-0.0007 (0.00)		0.0013 (0.01)	0.003 (0.96)
Isildur	0.0004 (0.24)	-0.0001 (1.0)	0.0003 (0.61)	0.0009 (0.00)		-0.0010 (0.07)
Soissons	-0.0001 (0.98)	-0.0005 (0.03)	-0.0002 (0.74)	0.0004 (0.06)	-0.0005 (0.04)	

Water						
Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		0.0029 (0.00)	0.0016 (0.08)	-0.0003 (1.0)	0.0006 (0.88)	-0.0005 (0.95)
Biensur	0.0022 (0.00)		-0.0014 (0.18)	-0.0032 (0.00)	-0.0023 (0.00)	-0.0034 (0.00)
Caphorn	0.0007 (0.84)	-0.0015 (0.13)		-0.0018 (0.02)	-0.0009 (0.60)	-0.0021 (0.01)
Hysun	-0.0011 (0.41)	-0.0033 (0.00)	-0.0015 (0.03)		0.0009 (0.63)	-0.0002 (1.0)
Isildur	0.0003 (0.99)	-0.0018 (0.03)	-0.0004 (0.99)	0.0015 (0.14)		-0.0011 (0.37)
Soissons	-0.0008 (0.71)	-0.003 (0.00)	-0.0015 (0.10)	0.0002 (1.0)	-0.0012 (0.34)	

FIGURE 17: TABLEAU PRESENTANT LE TEST DES « DIFFERENCES HONNETES » DE TUCKEY, QUI VERIFIE SI LES DIFFERENCES ENTRE DEUX MOYENNES SONT SIGNIFICATIVES. ON COMPARE AINSI LES 6 DIFFERENCES POUR LES 3 TRAITS PHENOTYPIQUES POUR LES 6 VARIETES. LA DIFFERENCE EST PROPOSEE ET ENTRE PARENTHESE LA PROBABILITE CRITIQUE. L'HYPOTHESE DU TEST ETANT « LES DEUX VARIETES N'ONT PAS UNE MOYENNE SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTE ». L'OBJECTIF DE CE TABLEAU EST DE VALIDER LE FAIT QUE PROSPECT ET LES METHODES DESTRUCTIVES DETECTENT LES MEMES DIFFERENCES.

Ces résultats démontrent que la modélisation de la mesure à l'échelle de la feuille est pertinente pour identifier des différences variétales dans le cadre du phénotypage. Toutefois, la principale limitation de ces travaux réside dans le fait qu'ils ont été obtenus avec une sphère intégrante au laboratoire et ne sont donc pas haut-débit.

2.2.2 Et l'azote ?

Un débat récurrent existe sur la capacité à estimer directement le contenu en azote total des feuilles à partir d'un spectre radiométrique sur feuille fraîche dans la gamme spectrale 400 – 2500 nm ? Certains l'affirment (Ecarnot et al. 2013) lors que d'autres l'espèrent (Kokaly 2001). Ils utilisent des méthodes statistiques complexes appelées chimiométrie. Elles ont pour but d'ajuster un modèle statistique sur un jeu d'apprentissage composé de mesures de la variable cible associée à des observations multiples (typiquement un spectre). Toutefois, la portabilité des relations obtenues n'est pas toujours garantie (Grossman et al., 1995). Notons que ce débat existe également à l'échelle du couvert (Yuri Knyazikhin et al. 2012; Ollinger et al. 2008).

Nos mesures sur feuilles montrent que la corrélation entre la chlorophylle et l'azote est très forte (Figure 18). Cela s'explique par le stockage de la majorité de l'azote absorbée dans la protéine nommée RubisCo qui est impliquée dans la photosynthèse. Cette relation n'est cependant pas stable (Lawlor 2002). Or c'est la chlorophylle qui est détectable théoriquement dans le domaine du visible proche infra rouge, les liaisons caractéristiques de l'azote ne commencent à apparaître qu'après 1980nm (Paul J Curran 1989; Kokaly 2001) excepté à 1580nm en superposition avec une forte bande d'absorption de l'eau.

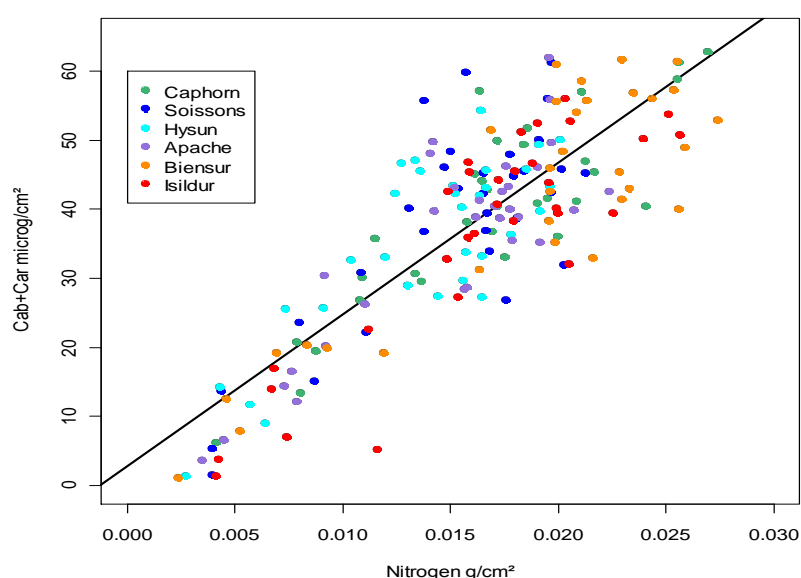


FIGURE 18: CORRELATION ENTRE CONTENU EN CHLOROPHYLLE ET CONTENU EN AZOTE MESURES DE MANIERE DESTRUCTIVE POUR 156 FEUILLES DE BLE POUR 6 VARIETES DIFFERENTES. LA CORRELATION DE LA RELATION EST FORTE : $R^2 = 0.71$

Les relations chimiométriques établies pour l'azote sont elles causales ou bien résultent t'elles de relations avec des co-facteurs, et en particulier avec la chlorophylle? Pour répondre à cette questions, notre étude se bon se propose de développer 3 modèles de PLSR permettant l'estimation du contenu en azote mais utilisant les domaines spectrales suivant:

- Visible et Proche Infra-Rouge ou VIS-NIR (400nm-850) : C'est le domaine d'absorption de la chlorophylle.

- Moyen infra-rouge ou SWIR (850-2300nm) : la chlorophylle n'absorbe pas dans ce domaine. C'est principalement l'eau et les composantes de la matière sèche (cellulose, hémicellulose, etc.) qui absorbent.
- Sur l'ensemble du spectre ou VIS-SWIR (400nm-2300nm) : C'est le domaine utilisé concrètement pour étalonner le modèle.

Le RMSE obtenu en validation croisée est de 0.0020 g/cm² à la fois pour le modèle VIS-NIR que pour le VIS-SWIR. Le modèle SWIR a un RMSE de validation croisée qui est le double 0.0037 g/cm². Le contenu en azote des feuilles variant entre 0 et 0.03 g/cm². Cela montre que l'utilisation de moyen-infra rouge n'améliore pas la prédiction du contenu en azote. C'est pourtant dans ce domaine où l'on trouve des absorptions spécifiques liées à l'azote.

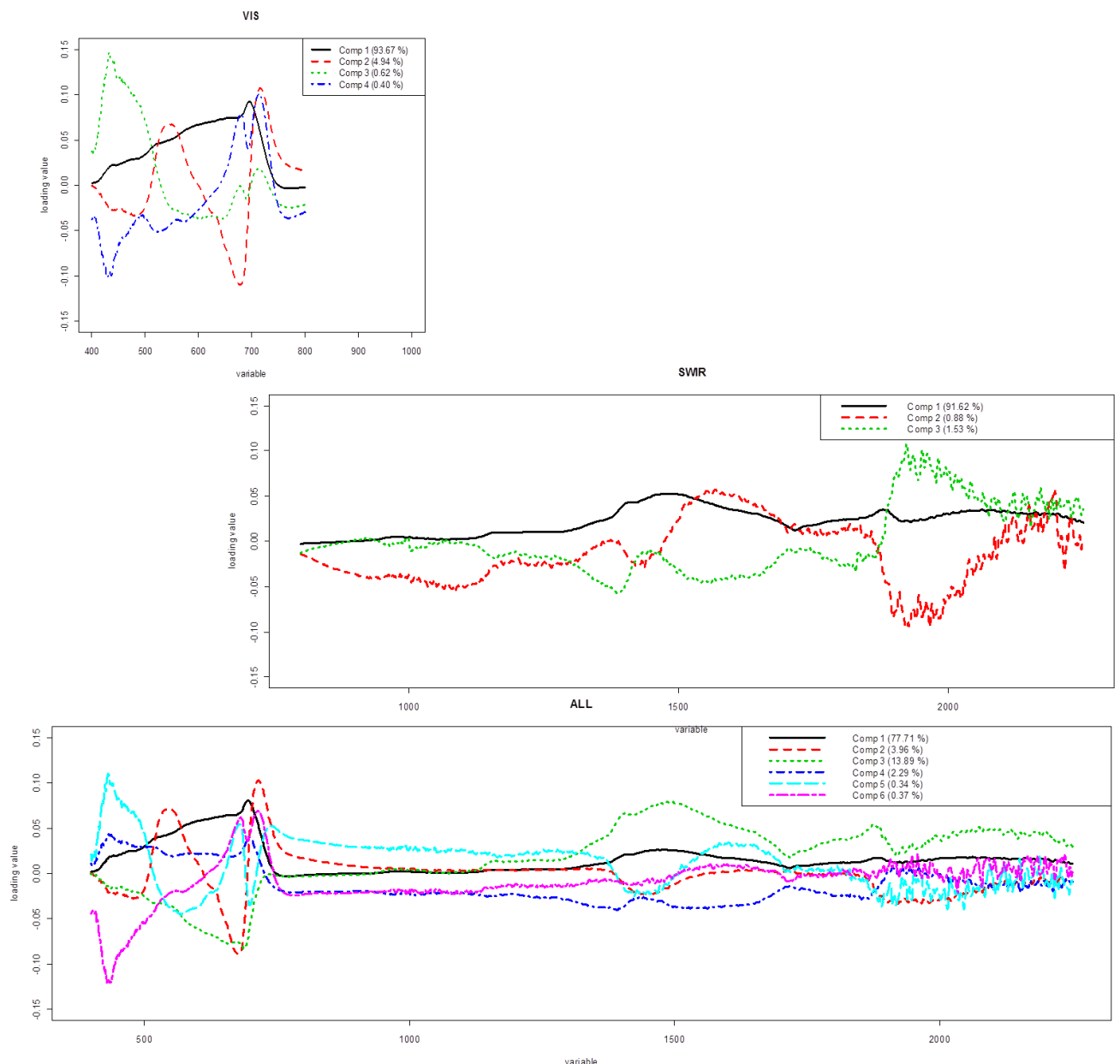


FIGURE 19: SPECTRES DES LOADINGS POUR LES 3 MODELES DE PLSR AJUSTANT L'AZOTE SE BASANT RESPECTIVEMENT SUR LE DOMAINE SPECTRAL: VIS-NIR, SWIR ET VIS-SWIR.

La Figure 19 propose de visualiser les contributions des différentes longueurs d'ondes dans l'étalonnage de la relation pour les trois modèles. Il est intéressant de noter que l'on retrouve les

patrons important pour déterminer le contenu en chlorophylle à la fois pour le modèle VIS-NIR et pour le modèle VIS-SWIR : zone du « vert » et du « Red-edge » corrélée dans le même sens et inversement corrélée à la zone du rouge. Ces patrons s'expliquent par le fait que la chlorophylle absorbe plus dans le rouge que dans le vert et le red-edge. De manière plus surprenante ce sont les patrons de l'absorption de l'eau qui sont observés dans le domaine du SWIR.

Les deux figures proposées dans ce paragraphe ne sont pas suffisantes pour démontrer formellement que les modèles de chimiométrie aboutissent à une estimation correcte du contenu en azote grâce à une subtile combinaison entre le contenu en chlorophylle, le contenu en eau et en matière sèche. Cela permet cependant de modérer l'optimisme exagéré dégagé dans certains travaux suggérant la possibilité d'obtenir directement et de manière concomitante le contenu en azote et le contenu en chlorophylle.

L'étude des relations chlorophylle/azote pour être fiable ne pourra se contenter uniquement de mesures radiométriques. Et nous préférons nous baser sur la chlorophylle qui est directement quantifiable dans le domaine spectral étudié.

2.3 L'estimation des variables phénotypiques d'intérêts à l'échelle du couvert

Les mesures sont réalisées à l'aide de spectromètres (information spectrale) et d'appareil photo numérique (information spatiale) à l'échelle du couvert dans deux configurations (Nadir et 57°) pour une surface comprise entre 0.25 et 1m². Nous tenterons ici de répondre à quelques questions utiles pour juger de la pertinence du système de mesure pour le phénotypage :

- Quelle complémentarité entre les mesures issues des images RGB et des spectrophotomètres utilisés?
- Quelles sont les variables d'intérêts phénotypiques atteignables avec le système décrit ?
- Peut-on essayer de classer ces variables non destructives en fonction de leur hérédité ?

2.3.1 Complémentarité entre mesures issues des deux types de capteurs

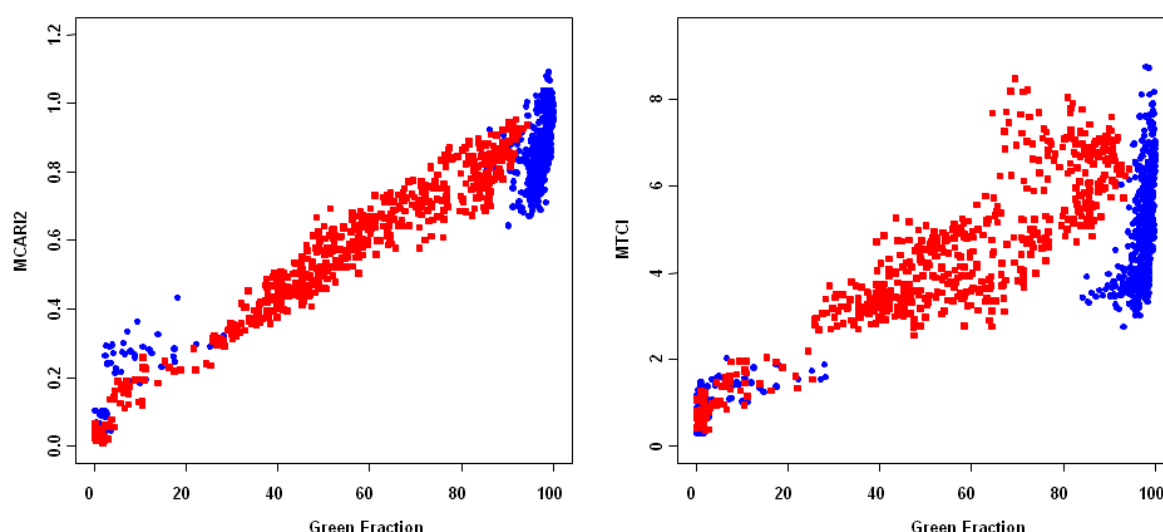


FIGURE 20: RELATION ENTRE LA FRACTION VERTE CALCULEE A PARTIR DE PHOTOS ET DES EUX INDICES SPECTRAUX UTILISES: LE MCARI2 ET LE MTCI. EN ROUGE LES MESURES EFFECTUEES EN POSITION NADIR ET EN BLEU LES MESURES A 57°.

Les capteurs utilisés échantillonnent la même surface de couvert dans le même domaine spectral mais avec des résolutions spectrales et spatiales très différentes. Nous avons donc dans un premier temps évalué le degré de complémentarité et de redondance des estimations de variables fournies.

La Figure 20 montre la très bonne corrélation entre le MCARI2 et la fraction de vert ($R^2=0.94$) à la fois pour les mesures à 0° et à 57° . Cela signifie que contrairement à ce que suggère (Haboudane et al. 2004) le MCARI2 est non pas corrélé au LAI (ou GAI) mais plus directement à la fraction de vert. La dispersion des points lorsque la fraction de vert est proche de 100% peut s'interpréter par la sensibilité accrue du MCARI2 qui intègre une bande dans le proche infrarouge. Cette variabilité du MCARI2 pour les fortes valeurs de fraction verte peut également s'expliquer par une sensibilité plus forte au contenu en chlorophylle des feuilles.

Cette sensibilité au contenu en chlorophylle est exacerbée pour le MTCI, indice spectral réputé sensible à la chlorophylle, mais qui est également très dépendant de la fraction de vert ($R^2=0.64$). Ces résultats montrent que le premier déterminant des indices spectraux est la fraction verte. La bonne cohérence entre fraction verte et MCARI2 constitue un élément de validation interne des mesures réalisées tout au long du cycle végétatif. La redondance forte entre mesures issues de capteurs différents apparaît être intéressante à conserver dans un système de phénotypage, de manière à s'assurer que les mesures acquises par chaque capteur sont d'une qualité suffisante. Il apparaît également que la richesse spectrale du spectrophotomètre contient des informations supplémentaires en particulier sur le contenu en chlorophylle, bien que nous n'ayons pas eu le temps de valider cette assertion. De même, l'imagerie RGB contient des informations spécifiques sur la structure du couvert, en particulier en combinant les deux directions de visée. Des efforts supplémentaires devront donc être fournis pour exploiter les spécificités de chacun des capteurs.

2.3.2 Les variables accessibles

La chaîne de traitement utilisée pour interpréter les mesures issues du système Arche permet d'obtenir des indices spectraux et une fraction de vert. La fraction verte à 57° permet d'obtenir une estimation du *GAI* (Baret et al. 2010) :

$$1 - FV(57^\circ) = e^{-\frac{0.5GAI}{\cos(57^\circ)}} \quad [1]$$

Nous avons également montré que la combinaison des fractions vertes à 0° et 57° permettait d'obtenir une bonne estimation du *FIPAR*, l'efficacité d'interception de la lumière par le couvert. En effet, nous avons également la relation établie à 0° entre la fraction verte et le *GAI* :

$$1 - FV(0^\circ) = e^{-G(ALA,0^\circ)GAI} \quad [2]$$

avec $G(ALA,0^\circ)$ la fonction de projection qui dépend sous hypothèses de milieu turbide de l'angle d'inclinaison des feuilles, *ALA*. En remplaçant *GAI* dans l'expression [2] par sa valeur extraite de l'expression [1], on peut donc estimer la valeur de *ALA*.

Sachant que *FIPAR* pour un angle zénithal d'incidence θ correspond à la fraction verte vue sous la même direction θ , on a donc :

$$FIPAR(\theta) = FV(\theta) = 1 - e^{-\frac{G(ALA,\theta)GAI}{\cos(\theta)}} \quad [3]$$

avec les valeurs de *GAI* et *ALA* estimées à partir des fractions vertes à 0° et 57° . Des tests réalisés à partir de simulations de modèles de transfert radiatif en milieu turbide et sur maquettes de blé générées à partir du modèle ADEL-WHEAT ont permis de valider cette approche. La figure 16 montre l'évolution du *FIPAR* de 6 variétés et 2 traitements estimé à partir des fractions vertes à 0° et 57° . La quantité de PAR interceptée par le couvert cumulée sur une période donnée peut être ainsi calculée :

$$C_{t_1-t_2}^{PAR} = \sum_{t_1}^{t_2} PAR(t) \cdot FIPAR(t) \quad [4]$$

avec $PAR(t)$ la quantité de PAR incident pour le jour t et $FIPAR(t)$ la valeur de *FIPAR* estimée pour le même jour t . La Figure 21 montre que dans notre essai il y a relativement peu de différences entre variétés sur le cumul de PAR intercepté par le couvert, quand les conditions d'alimentation azotée sont optimales. Par contre on observe des différences variétales significatives en situation de stress azoté.

Si l'on dispose de mesures de biomasse aux dates t_1 et t_2 , $M(t_1)$ et $M(t_2)$, on peut donc calculer l'efficacité photosynthétique correspondante, $\varepsilon_i^{t_1-t_2}$

$$\varepsilon_i^{t_1-t_2} = \frac{M(t_2) - M(t_1)}{C_{t_1-t_2}^{PAR}} \quad [5]$$

L'efficacité photosynthétique est une variable sans doute très importante pour la sélection variétale.

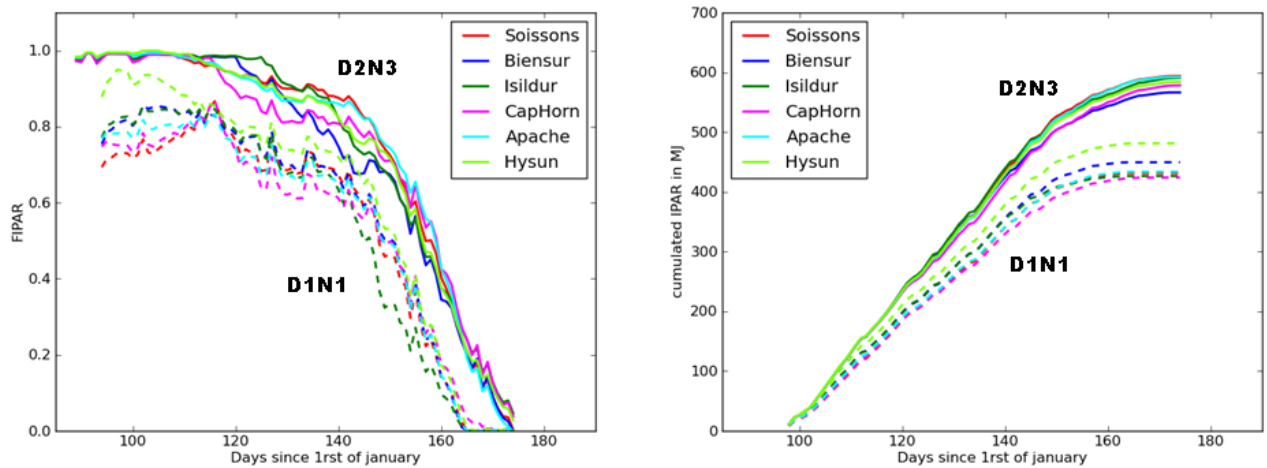


FIGURE 21: ESTIMATION DE FIPAR INTERCEPTE POUR LES DOY ET CUMULE DU PAR INTERCEPTE POUR LES 6 VARIETES SUIVANTS LES DEUX MODALITES LES PLUS EXTREMES.

2.3.3 La prise en compte de la dynamique

La dynamique du couvert est révélatrice de son fonctionnement. L'utilisation de métriques décrivant la dynamique du couvert pour la sélection variétale peut donc être très pertinente. Nous avons proposé un modèle bilinéaire très simple pour décrire la dynamique des indices spectraux mesurés par le système « arche ». Le temps est exprimé ici en °C.jour, cette échelle de temps permettant de prendre en compte en partie l'effet température sur la dynamique. Le modèle bilinéaire utilisé possède seulement 3 paramètres: pente de la période végétative α_1 , pente de la sénescence α_2 et le degré/jour T_{12} de transition entre la période végétative et la période de sénescence. La Figure 22 montre l'ajustement de ce modèle empirique pour la variété Soissons suivant les modalités forte densité de semi et carence modérée en azote. Le modèle s'ajuste donc assez fidèlement aux données.

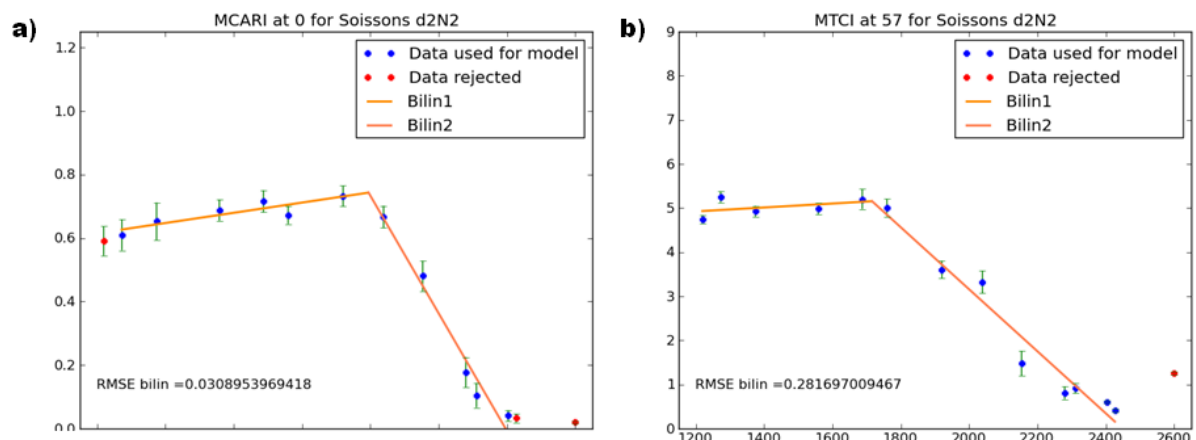


FIGURE 22: MODELE BILINEAIRE BASE SUR L'AJUSTEMENT DES INDICES SPECTRAUX (MCARI2 A), MTCI B)) MODELISANT LA PERIODE VEGETATIVE ET LA SENESCENCE. UN ALGORITHME PERMET D'ELIMINER LES MESURES PARASITES LOCALISE AUX EXTREMITES : SOIT QUAND LE COUVERT N'EST PAS COMPLETEMENT MIS EN PLACE SOIT QUE LA SENESCENCE EST ACHEEVEE.

A l'aide de ce modèle de dynamique des indices spectraux, 8 métriques issues des mesures de phénotypage haut débit (HTM) sont définies et présentées dans le

Tableau 2 et Figure 23.

TABLEAU 2: DEFINITION DES 8 METRIQUES ISSUES DU PHENOTYPAGE HAUT DEBIT (HTM)

Symbol	Definition	Unit
T_{12}	Time (°C.day) at transition between Periods 1 and 2 (beginning of senescence)	°C.day
T_2	Time (°C.day) at end of period 2 (end of senescence)	°C.day
α_1	Rate of change during period 1 (vegetative period)	°C ⁻¹ .day ⁻¹
α_2	Rate of change during period 2 (senescence period)	°C ⁻¹ .day ⁻¹
$VI(T_{12})$	VI value at transition between periods 1 and 2 (beginning of senescence)	-
I_1	Integrated value over periods 1	°C.day
I_2	Integrated value over periods 2	°C.day
$I_1 + I_2$	Integrated value over periods 1 and 2	°C.day

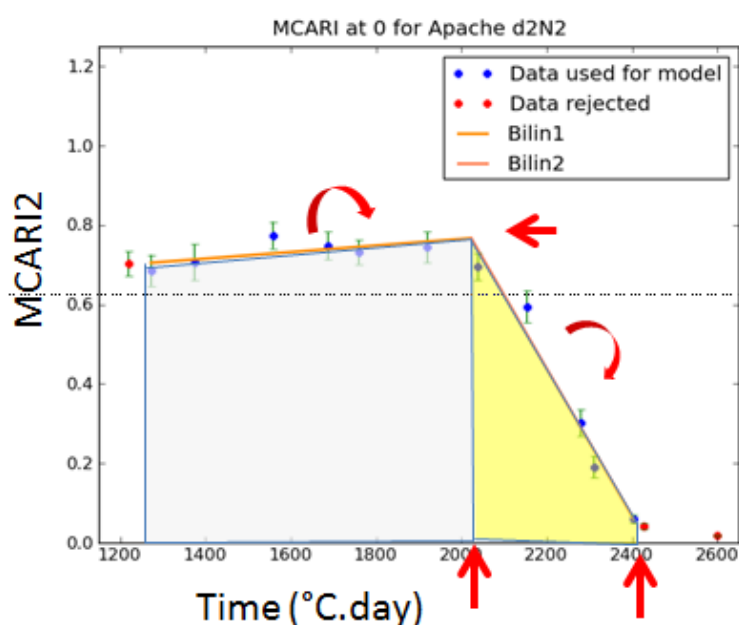


FIGURE 23: LA REPRESENTATION DES VARIABLES ISSUES DU PHENOTYPAGE HAUT DEBIT

2.3.4 Les variables issues du phénotypage haut débit sont-elles hérissables ?

L'un des moyens pour valider les indices mesurés et la modélisation empirique de la dynamique du couvert végétal est de les comparer avec des mesures destructives réalisées classiquement dans les essais de phénotypage (DMH pour Destructive measurements at Harvest). Ces comparaisons ont montré des corrélations fortes entre HTM et DMH surtout pour les HTM intégrés, ce qui est à la fois réconfortant mais aussi pose des questions sur les informations supplémentaires que l'on attend des mesures de phénotypage haut-débit.

Nous avons également évalué la pertinence des mesures de phénotypage haut-débit en analysant l'hérissabilité des métriques http associées. L'hérissabilité est ici définie par la variance expliquée par le facteur 'génotype' (la variété) dans une analyse de variance prenant en compte l'effet de la variété (g), et les facteurs « environnementaux » (densité de semi, d et traitement azote, n) ainsi que les interactions simples entre facteurs:

$$\text{HTM} = \mu + g + n + d + \alpha_{gn} + \alpha_{gd} + \alpha_{dn} + \varepsilon$$

$$\text{DMH} = \mu + g + n + d + \alpha_{gn} + \alpha_{gd} + \alpha_{dn} + \varepsilon$$

Notons que la puissance statistique de ces tests est très faible compte tenu du faible nombre de variétés (6) testées et le nombre total de parcelles disponibles (36).

TABLEAU 3: RESULTAT DE L'ANALYSE DE VARIANCE POUR LES PRINCIPALES HTMS ET DMH. LE POURCENTAGE DE VARIANCE EXPLIQUANT TEL OU TEL FACTEUR EST INDIQUE, LES ETOILES REPRESENTANT LA SIGNIFICATIVITE DU POURCENTAGE. LES METRIQUES HTM ET DTM SONT CLASSEES PAR ORDRE DECROISSANT DE VARIANCE EXPLIQUEE PAR LE FACTEUR GENOTYPE (HERITABILITE).

HTM	DMH	g	N	d	α_{gn}	ε
	HI	72.27***	5.27***	0.13	16.47*	5.87
MCARI2(0°) T_{12}		66.34***	14.57***	1.28*	8.50*	9.31
MCARI2(0°) α_2		44.61***	16.07***	5.42*	18.89*	15.02
MTCI(57°) α_1		29.81***	44.21***	2.10*	8.50*	15.38
	Yield	26.68***	68.68***	0.73*	2.87*	1.04
MCARI2(0°) I_2		23.53***	63.27***	0.23*	9.06*	3.91
MCARI2(0°) (T_{12})		22.92***	59.24***	2.61*	11.52*	3.71
	CN_{grain}	21.51***	73.69***	0.27	2.85*	1.68
	fN_{grain}	19.98**	60.98*	0.00	11.30*	7.74
MCARI2(0°) α_1		17.87**	70.66*	0.04	8.75*	2.68
	AGDM	16.11***	77.22***	0.62*	3.97*	2.08
MTCI(57°) I_1		14.43***	62.43***	0.91*	15.47*	6.75
MTCI(57°) (T_{12})		12.01***	81.85***	0.16*	3.44*	2.54
MCARI2(0°) I_1		10.50***	82.77***	1.62*	2.95*	2.15
MTCI(57°) $I_1 + I_2$		7.84***	86.62***	0.02*	2.54*	2.97
MCARI2(0°) $I_1 + I_2$		7.39***	88.14***	1.32*	2.13*	1.03
	CN_{total}	4.15**	92.99***	0.07	1.45	1.33
	QN_{grain}	2.28**	94.89***	0.12	2.07*	0.64
	QN_{total}	1.38**	95.88***	0.07	2.14**	0.54

Le Tableau 3 montre que certaines variables sont plus sensibles à l'effet variété et d'autres à l'effet azote. Les variables 'HTM' montrent une héritabilité significative vis-à-vis des variables de phénotypage classique (DMH). Ce simple test permet de valider l'approche phénotypage haut-débit, même si bien sur une analyse plus aboutie effectuée sur un dispositif statistique plus conséquent permettrait de conclure plus finement.

2.4 Identification des limites du système actuel

Ces différents travaux nous permettent d'esquisser les limites des systèmes actuels pour le phénotypage haut débit. En effet, pour améliorer le débit actuel (environ 100 parcelles/heure sur une fenêtre de temps de l'ordre de 4 heures) et améliorer la qualité des variables agronomiques estimées, nous devons maîtriser l'intégralité du processus qui va de l'acquisition rapide de mesures à leur interprétation. On peut ainsi identifier trois points clefs de l'acquisition qui doivent être améliorés afin de faire du phénotypage de qualité : le vecteur, les capteurs et l'interprétation des mesures.

2.4.1 Le vecteur

Le premier facteur limitant pour accéder au haut débit de mesure est le vecteur. En effet que ce soit une pince ou une arche portée par un tracteur, ces systèmes sont relativement lents, et ne peuvent pas être entièrement automatisés. Il est ainsi nécessaire de développer un vecteur qui soit complètement automatique pour réaliser rapidement un grand nombre de mesures.

Dans ce sens avec l'aide de l'entreprise Meca 3D et Effidence, un prototype complètement automatisé a été mis au point présenté Figure 19. Il devrait être opérationnel pour les premiers tests en juin 2013.



FIGURE 24: PREMIERE PRESENTATION DE LA "PHENOMOBILE" A L'EQUIPE. ELLE DEVRA ETRE CAPABLE D'ENJAMBER LE BLE.

2.4.2 Les capteurs

Afin d'augmenter le débit et augmenter la fenêtre temporelle d'acquisitions possibles, ils doivent s'affranchir des variations de conditions d'illuminations naturelles. Ils doivent donc fonctionner de manière active en intégrant une source artificielle qui éclaire la scène échantillonnée.

Les capteurs doivent également intégrer un système d'étalonnage permettant d'assurer une très grande cohérence entre mesures prises à des temps et dates qui peuvent être très différents.

Il est nécessaire d'avoir des capteurs ayant une résolution spatiale suffisamment fine pour atteindre l'organe. En pratique une résolution millimétrique semble bien adaptée. Ces capteurs peuvent fournir des images (caméra multi-spectrale, camera RGB) ou un échantillonnage de points dans le couvert (LIDAR).

L'information sur la structure 3D du couvert nous semble également essentielle à une bonne description de son fonctionnement. Les systèmes LIDAR et stéréo-photographiques nous semblent bien adaptés au besoin du phénotypage haut-débit.

2.4.3 L'interprétation du signal des capteurs

L'interprétation des données radiométriques issues des capteurs est complexe. Nous avons proposé une méthode simple basée sur les indices pour interpréter les mesures. L'utilisation de la dynamique pour s'affranchir des artefacts potentiels des indices a permis d'obtenir des HTM (High throughput metrics) qui ont une forte valeur ajoutée. Cependant le besoin d'estimer directement les variables de structure et des variables biochimiques afin de nourrir les modèles agronomiques doit être satisfait. Comme nous l'avons montré en introduction, la construction du lien entre les variables issues du transfert radiatif du couvert et les variables d'intérêts agronomiques constitue un problème qui est mal posé. Le travail réalisé au cours de cette thèse a permis de murir cette question. L'approche à privilégier est celle qui doit permettre de caractériser la structure 3D et le contenu biochimique 'ex ante', c'est-à-dire sans l'aide de connaissances particulières sur la structure du couvert. Il nous semble que les capteurs qui doivent être déployés dans les versions futures de système de phénotypage (LIDAR, camera stéréo, LIDAR multispectral) vont nous permettre d'atteindre cet objectif en particulier grâce à un suivi de la dynamique très serré, permettant de construire l'ensemble de la structure 3D de la plante en ajoutant à chaque pas de temps la description des derniers éléments apparus.

3 La BRDF des feuilles : mesure, modélisation et conséquence au niveau du couvert

Parmi les différents verrous techniques et scientifiques cités dans la première partie, l'amélioration de la compréhension de l'interaction plante/lumière et notamment les conséquences des propriétés directionnelles des feuilles a été privilégiée. Ce choix a été motivé par le fait que le sujet est à la fois d'un intérêt académique et applicatif. Dans un premier temps nous décrivons comment réaliser des mesures optiques et directionnelles des feuilles, puis nous explorerons les différentes voies possibles de modélisations pour prendre en compte ces propriétés. Finalement nous montrerons comment ce travail de mesure et de modélisation peut et doit s'intégrer dans les réflexions plus larges du phénotypage haut débit.

3.1 La mesure des propriétés directionnelles des feuilles

3.1.1 Comment réaliser des mesures de BRDF/BRF

Il existe une grande diversité de systèmes de mesure de la BRDF, certains étant particulièrement ingénieux. Pourtant les mesures de BRDF de feuilles disponibles dans la littérature sont très majoritairement réalisées avec des goniomètres. Toutefois, il semble important de décrire les différents systèmes recensés en montrant leurs avantages et leurs inconvénients. Il existe quatre grandes technologies: le goniomètre, la sphère imageante, le système imageant, le Conoscope (ou optique à transformée de Fourier).

3.1.1.1 Le Goniomètre

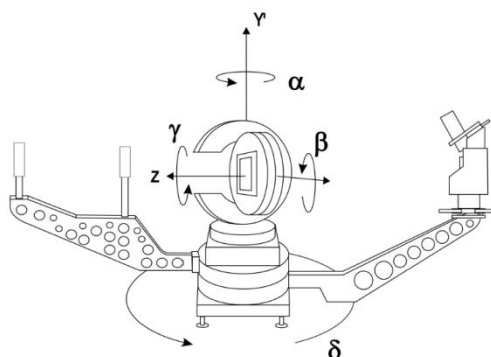


FIGURE 25: ILLUSTRATION D'UN GONIOMETRE "DE REFERENCE" (OBEIN ET AL. 2005). ON NOTE QUE SUR CE GONIOMETRE LA SURFACE AUSSI PEUT EFFECTUER DES ROTATIONS, IL Y A DONC DES CONVERSIONS A FAIRE ENTRE LES ROTATIONS DU GONIO DE LA BRDF MESURE PAR LE GONIO.

Le goniomètre est le système le plus répandu pour réaliser des mesures de BRF/BRDF. Son principe est simple mais très efficace : il consiste en une source et un capteur directionnels. Un dispositif permet d'effectuer des rotations autour de la surface à mesurer. Il existe une grande diversité de goniomètres car il est possible de moduler les propriétés à la fois de la source, du capteur et du dispositif de rotation. En fonction des objectifs, des budgets et des disciplines, ce ne sont pas les mêmes solutions techniques qui sont choisies. Notons également que le goniomètre permet à la fois des mesures de BRDF (mesures de luminance et d'éclairement) et de BRF (mesures de luminance uniquement). Les goniomètres permettant de mesurer la BRDF sont souvent des dispositifs dits « de référence » (Obein et al. 2005; Höpe & Hauer 2010). En effet, ils permettent de mesurer les propriétés directionnelles des surfaces de manière absolue, sans utiliser de surfaces de référence.

C'est le cas des goniomètres fabriqués au Laboratoire Nationale de métrologie et d'essai (LNE) ou au NIST aux Etats unis. D'autres Goniomètres capables de mesurer des BRDF existent dans la littérature et ont permis de décrire les propriétés de certaines feuilles (Breece lii & Holmes 1971; Woolley 1971; Combes et al. 2007; Biliouris et al. 2007). Tous ces goniomètres ont des propriétés différentes, et permettent ou pas de faire des mesures en transmittance. Dans notre laboratoire à l'INRA d'Avignon, nous avons également construit un goniomètre très simple où seule la surface et le capteur constitué d'une fibre optique relié à un spectrophotomètre peuvent effectuer des rotations. C'est ce goniomètre rudimentaire qui nous a permis de détailler les propriétés des références pour le système de phénotypage au champ 'phénoArche'.

3.1.1.2 La sphère imageante

Le principe de la sphère imageante est de disposer d'un hémisphère dont le centre est situé au niveau de l'échantillon à analyser, sur laquelle on mesurera la variation directionnelle de la lumière réfléchie. Le positionnement de la source est la partie complexe du dispositif et plusieurs solutions techniques ont été proposées. (Sarto et al. 1990) semble être la plus ancienne référence sur le sujet, la surface d'étude étant déjà la feuille. (Ward 1992) a également développé un système très similaire à Sarto, mais est allé plus loin dans l'exploitation des données. Son sujet était cependant très éloigné du notre puisque qu'il s'est intéressé aux matériaux de construction. De nos jours une entreprise commercialise des sphères imageantes (<http://www.radiantzemax.com/en/products/imaging-sphere/>) très similaires au deux premières références Figure 26B. Enfin (Ben-Ezra et al. 2008) propose à l'aide des nouvelles technologies une sphère imageante très innovante qui est composée uniquement de LED qui peuvent à la fois servir de source et de capteur.

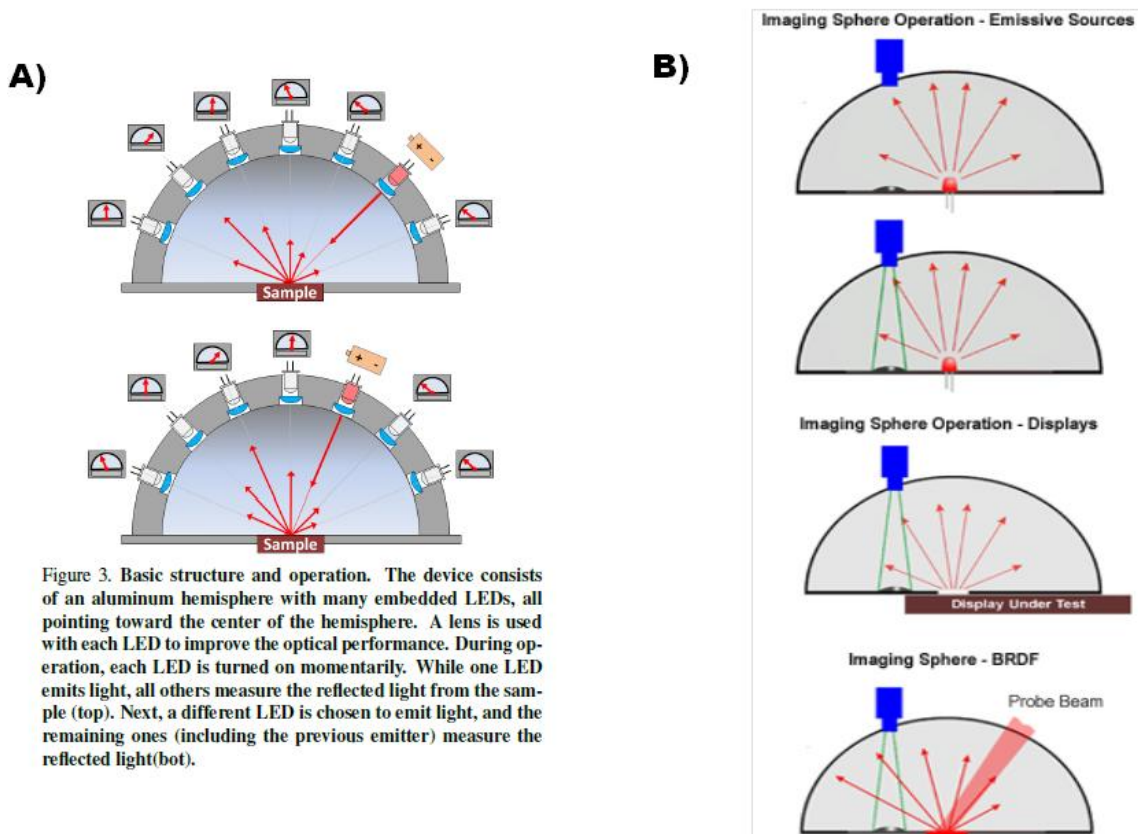


Figure 3. Basic structure and operation. The device consists of an aluminum hemisphere with many embedded LEDs, all pointing toward the center of the hemisphere. A lens is used with each LED to improve the optical performance. During operation, each LED is turned on momentarily. While one LED emits light, all others measure the reflected light from the sample (top). Next, a different LED is chosen to emit light, and the remaining ones (including the previous emitter) measure the reflected light(bot).

FIGURE 26: SCHEMA DE DEUX SYSTEMES EXPLOITANT LE CONCEPT D'UNE SPHERE IMAGEANTE. LE SCHEMA A) PROPOSE DE CE SERVIR DE LED QUI PEUVENT TOUR A TOUR SERVIR DE SOURCE OU DE RECEPTEUR (BEN-EZRA 2008). LE SCHEMA B) MONTRE LE SYSTEME PLUS CLASSIQUE ET COMMERCIALISE PAR LA SOCIETE RADIANT. LE RECEPTEUR EST COMPOSE D'UN MIROIR CONCAVE ET D'UNE CAMERA. IL AURAIT AUSSI ETE POSSIBLE D'UTILISER UN OBJECTIF FISH-EYE.

3.1.1.3 Le Système imageant

Le système imageant repose sur l'acquisition d'une image du matériau à échantillonner, celui-ci étant plaqué sur un cylindre. Une source directionnelle est dirigée vers le cylindre. A chaque pixel de l'image correspond un angle de visée et une direction d'incidence particuliers. Ce système a été décrit par (Marschner et al. 2000).

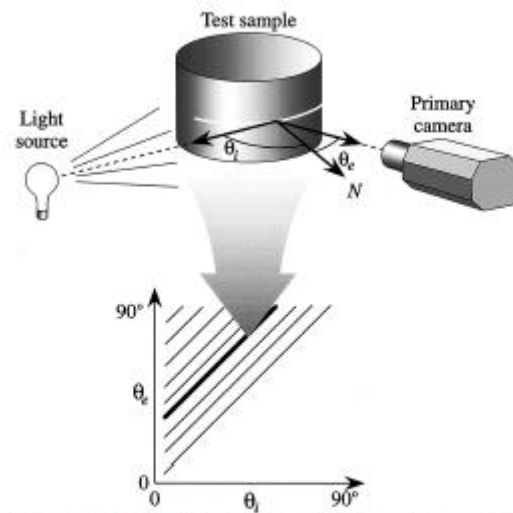


Fig. 3. Mapping from the surface to the BRDF parameter space in the incidence plane. If both camera and source were at an infinite distance from the sample, $\theta_e - \theta_i$ would be constant and the diagonal lines would be straight as shown; in our measurements, they are slightly curved.

FIGURE 27: SCHEMA DU SYSTEME IMAGEANT ISSUE DE LA PUBLICATION DE (MARSCHNER ET AL. 2000)

3.1.1.4 Le Conoscope

Le principe du conoscope est radicalement différent des 3 autres systèmes cités précédemment. Il consiste en un jeu de lentilles qui collecte les rayons réfléchis par l'échantillon dans toutes les directions en le projetant sur une surface plane. Une image est ensuite acquise. Une série d'équations simples permet de convertir les pixels qui sont décrits dans un plan cartésien (X, Y) de projection en fonction des angles (θ, ϕ) caractérisant les directions de réflexion. Ce système s'appelle également un système à optique à transformée de fourrier.

Nous avons sélectionné le système qui permet d'acquérir rapidement une grande quantité de points de mesure avec un bon échantillonnage angulaire. En effet, la feuille « transpire » et perd de l'eau rapidement, modifiant ainsi son état de surface et sa structure interne (Woolley 1971; Brakke et al. 1989). Il faut donc que les acquisitions se fassent dans un laps de temps restreint pour limiter cet effet. Le conoscope répond bien à cette contrainte et permet de plus d'avoir un échantillonnage angulaire extrêmement fin et pour des directions non atteignables avec les autres systèmes, en particulier autour du hot-spot, c'est-à-dire quand les directions d'incidence et de réflexion sont très proches.

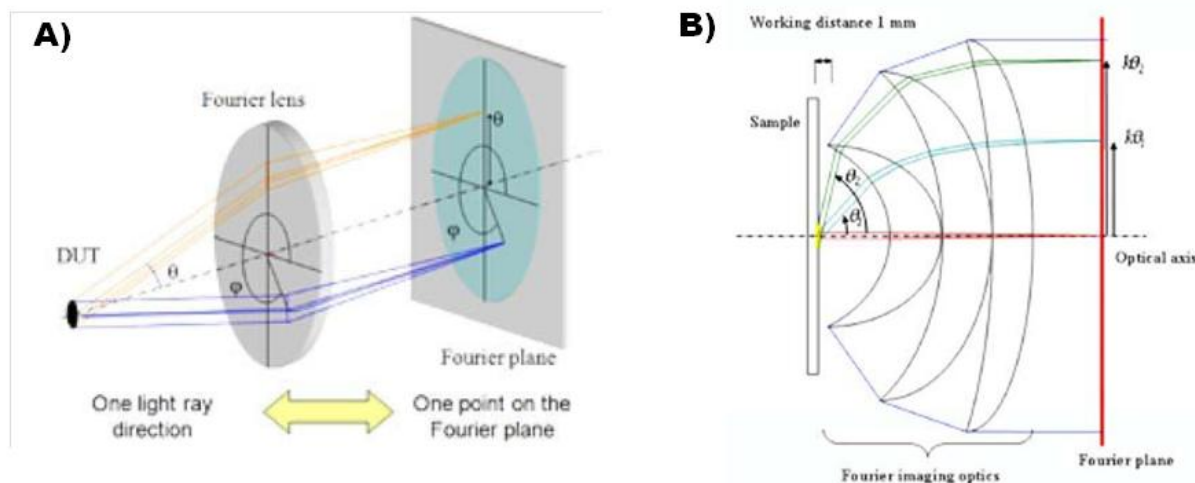


FIGURE 28: DEUX SCHEMAS PROPOSANT D'EXPLICITER LE FONCTIONNEMENT D'UN CONOSCOPE. ISSUE DE LA BROCHURE COMMERCIALE POUR LES EZ-CONTRASTE D'ELDIM (WWW.ELDIM.FR)

Au cours de ma thèse j'ai eu la chance de nouer un partenariat Pr Françoise Viénot qui possède un Conoscope au le Muséum d'Histoire naturelle de Paris. C'est donc avec cet instrument (EZ-Contrast 80) que j'ai réalisé toutes les acquisitions sur feuilles qui seront présentées dans ce travail.

3.1.2 Les mesures de réflectance directionnelles de feuilles

Dans cette partie nous discuterons des acquisitions décrites dans la publication relatives aux feuilles de blé (Comar et al. 2012), mais aussi une série de mesures réalisées sur des feuilles de différentes espèces sélectionnées pour avoir une large gamme de propriétés de surface.

3.1.2.1 De l'appareil à la mesure de BRDF

L'EZ-contrast a été conçu par le fabricant Eldim SA (www.eldim.fr) pour acquérir des données en luminance relative, suffisante pour la mesure de l'apparence et de la couleur. Il est donc important de passer d'une luminance à une BRF pour pouvoir interpréter la mesure. De même que précédemment dans le second chapitre, l'étalonnage de l'appareil en facteur de réflectance a nécessité de développer une méthode adaptée au système permettant la prise en compte des imperfections de la surface de référence. Celle-ci est une surface de spectralon qui a pour propriété certifiée une $HDRF(8^\circ) = 0.991$ pour toutes les bandes spectrales considérées ici, c'est-à-dire dans le domaine du visible.

L'éclairement E_i dépend de l'angle d'incidence puisque la tache du faisceau lumineux est plus grande que la tache échantillonnée. Malheureusement l'éclairement ne suit pas exactement la loi théorique en cosinus du fait d'imperfections du système (observations de Gaël Obein (2003) confirmées par des mesures que nous avons réalisées ultérieurement). Par soucis de simplification, nous avons décidé dans un premier temps, de ne pas modifier la direction d'incidence en la fixant à 45° . L'étalonnage s'appuie alors sur quatre hypothèses:

1. Le principe d'Helmhotz est respecté. Cela entraîne la relation $HDRF(\theta_r) = DHRF(\theta_i)$
2. La HDRF du spectralon est constante en fonction de la direction d'incidence. Le travail de Weidner et Hsia (1981) montre que c'est bien vérifié pour des angles d'incidence modérés.
3. Les mesures du conoscope sont répétables, c'est-à-dire que la mesure est très stable au cours d'une série de mesures.
4. Il est possible de calculer la DHSF (Directional Hemispherical Signal Factor) en intégrant les mesures directionnelles selon l'équation :

$$DHSF(45^\circ, \varphi_i) = \frac{\sum_{\varphi_r=0^\circ}^{360^\circ} \sum_{\theta_r=0^\circ}^{90^\circ} \text{Signal}(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r) \sin(\theta_r) \cos(\theta_r)}{\sum_{\varphi_r=0^\circ}^{360^\circ} \sum_{\theta_r=0^\circ}^{90^\circ} \sin(\theta_r) \cos(\theta_r)}$$

Pour les grands angles (80° - 90°) pour lesquels la mesure n'a pas été possible, on réalise une interpolation linéaire du terme $(\text{Signal}(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r) \sin(\theta_r) \cos(\theta_r))$ entre $80^\circ < \theta_r < 90^\circ$. En effet, pour $\theta_r = 90^\circ$ on a :
 $[\text{Signal}(45^\circ, \varphi_i, 90^\circ, \varphi_r) \sin(90^\circ) \cos(90^\circ) = 0]$.

En supposant que ces hypothèses soient vérifiées (elles sont toutes raisonnables), alors la $BRF(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r)$ se déduit des mesures du conoscope de la manière suivante :

$$BRF(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r) = \text{Signal}(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r) \frac{HDRF_{\text{spectralon}}(\theta_r = 8^\circ)}{DHSF_{\text{spectralon}}(45^\circ, \varphi_i)}$$

Ainsi le facteur $\frac{HDRF_{\text{spectralon}}(\theta_r=8^\circ)}{DHSF_{\text{spectralon}}(45^\circ, \varphi_i)}$ permet de transformer en BRF le signal mesuré en luminance.

Afin d'aller plus loin et étalonner l'appareil pour tous les angles d'incidence, une solution serait d'effectuer une mesure de référence pour tous les θ_i . Cependant la seconde hypothèse (la HDRF du spectralon est constante) nous pose problème car elle semble partiellement fausse. Il est ainsi impossible de différencier les propriétés intrinsèques du spectralon des effets liés aux imperfections du système entraînant des pertes de flux lumineux. Ainsi pour étalonner le conoscope à plusieurs angles d'incidence, il faut avoir une description plus complète de la BRDF du spectralon utilisé comme référence. A terme nous espérons bénéficier des mesures issues du gonioréfectomètre de référence du LNE et du CNAM pour mieux caractériser le spectralon.

3.1.2.2 Analyse des mesures effectuées sur des feuilles de blé

Il y a deux manières d'analyser les mesures réalisées avec l'EZ Contrast :

- Une première, plutôt qualitative qui consiste à décrire les principales caractéristiques des mesures effectuées, pour ensuite les comparer aux mesures disponibles dans la littérature.
- La seconde est plus de l'ordre quantitative, car l'échantillonnage directionnel est suffisamment dense et large pour pouvoir calculer la DHRF équivalente à ce que l'on mesure avec une sphère intégrante. Moyennant quelques hypothèses il est possible de séparer la composante diffuse de la composante spéculaire et de quantifier leurs contributions.

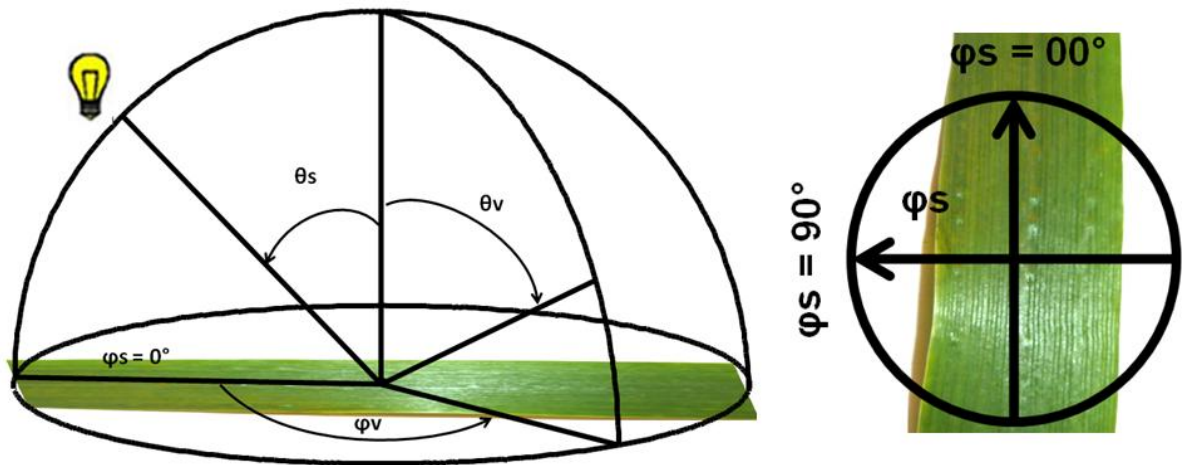


FIGURE 29: LA DEFINITION DE LA GEOMETRIE UTILISEE POUR DECRIRE LA BRDF DES FEUILLES DE BLE

Commençons par décrire les caractéristiques structurales puis les propriétés directionnelles des feuilles de blé. Une feuille de blé possède les caractéristiques typiques des feuilles de

monocotylédones : elle est allongée et possède un système vasculaire orienté selon la grande dimension de la feuille. A noter que toutes les veines sont grossièrement parallèles et forment des sortes de stries à la surface de la feuille. Des trichomes (petits poils) sont également observés.

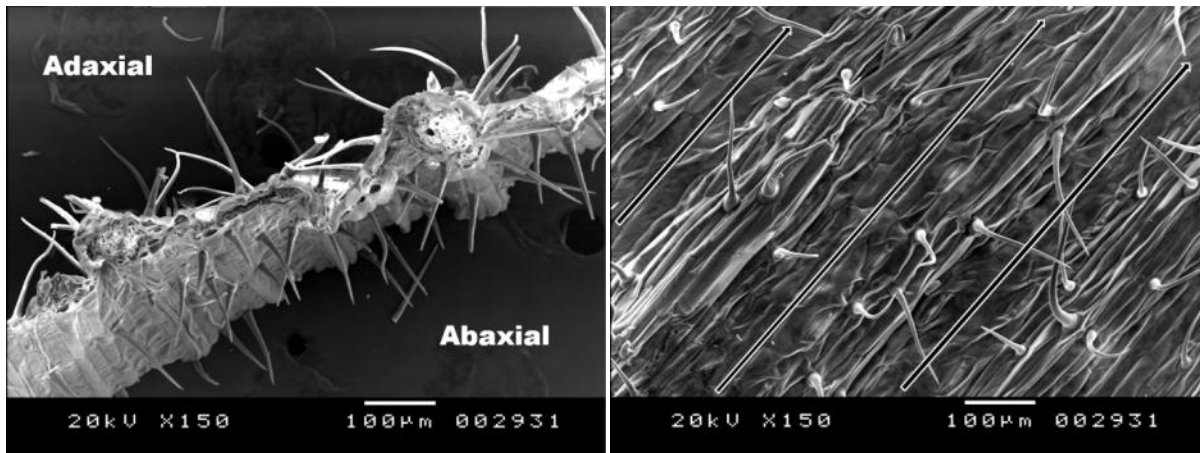


FIGURE 30: VISUALISATION AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE DE LA SURFACE D'UNE FEUILLE DE BLE

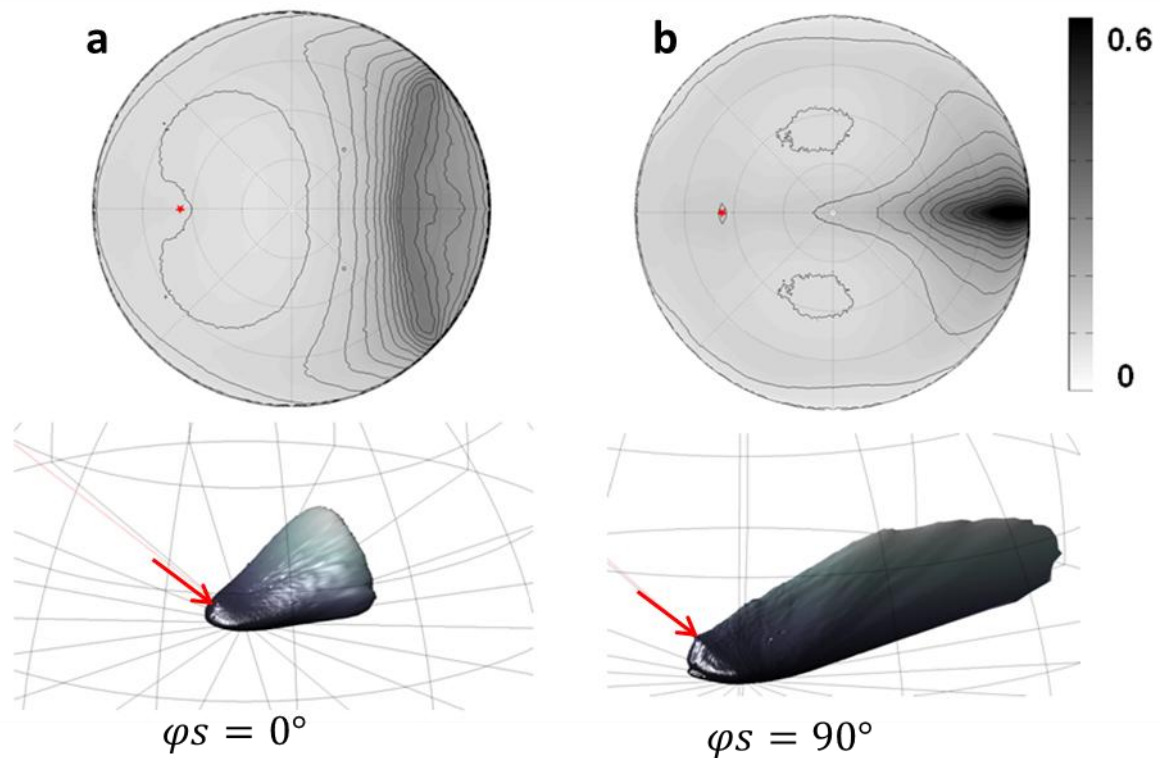


FIGURE 31: REPRESENTATION DE LA BRDF D'UNE FEUILLE DE BLE ISSUE DE LA MOYENNE DE 10 POINTS DE MESURE. UNE SYMETRISATION A EGLEMENT ETE REALISE.

Les mesures ont montré que la structure des feuilles de blé avait une incidence sur leurs propriétés directionnelles. En effet avec un angle zénithal d'incidence de 45° , la forme de la BRDF est complètement différente selon que le rayon incident arrive parallèlement ou perpendiculairement au système vasculaire comme le montre la Figure 31. Ainsi lorsque le faisceau lumineux arrive parallèlement au système vasculaire, le lobe spéculaire est relativement large (90° en azimut) ayant pour amplitude maximum une BRDF spéculaire d'environ 0.2. A l'inverse, lorsque le faisceau lumineux est perpendiculaire aux veines, le lobe spéculaire est beaucoup plus étroit (environ 35° en azimut) mais beaucoup plus intense : le maximum de la BRDF spéculaire étant d'environ 0.6. Un

comportement identique a déjà été observé sur une feuille de fétuque, mais n’a jamais été aussi bien décrit (Combes et al. 2007).

Nous avons ensuite essayé d’identifier et quantifier les contributions de différentes composantes de la DHRF totale

$$DHRF(45^\circ, \varphi_s, \lambda) = \frac{\sum_{\varphi_v=0^\circ}^{360^\circ} \sum_{\theta_v=0^\circ}^{90^\circ} BRF(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda) \sin(\theta_v) \cos(\theta_v)}{360 \sum_{\theta_v=0^\circ}^{90^\circ} \sin(\theta_v) \cos(\theta_v)}$$

- **Une partie diffuse** approximée par la valeur de BRF minimale mesurée. Dans la pratique le strict minimum pouvant être dû à un artefact de mesure, nous avons éliminé les premiers 5% pour prendre la valeur minimale en évitant d’éventuels artefacts de mesure. Une description plus rigoureuse de la méthode est disponible dans la publication. Nous donnons ici la formule discrète pour évaluer cette intégrale à l’aide des mesures.
- **Une partie spéculaire** qui peut se déduire de la différence entre la DHRF totale et la DHRF diffuse.

Cette décomposition permet de valider le fait que la composante spéculaire est indépendante de la longueur d’onde (Figure 32). Ceci est expliqué par la constance d l’indice de réfraction qui détermine la réflexion spéculaire.

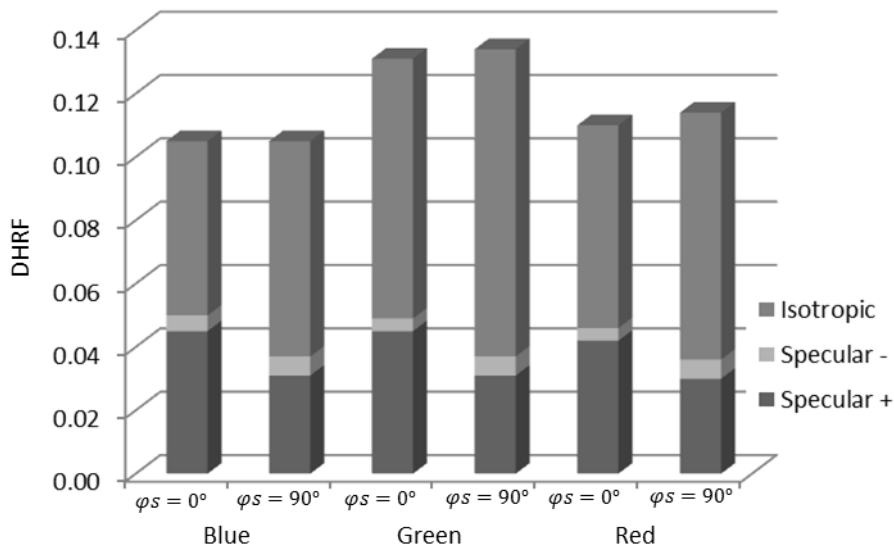


FIGURE 32: PROPORTION DES DIFFERENTES COMPOSANTES DE LA DHRF POUR 3 BANDES SPECTRALES CORRESPONDANT GROSSIEREMENT AU ROUGE VERT BLEU

La composante spéculaire apparait plus important à $\varphi_s = 0^\circ$, qu’à $\varphi_s = 90^\circ$, alors que le pic spéculaire de la BRF est plus fort à $\varphi_s = 90^\circ$ comparé à $\varphi_s = 0^\circ$ (Figure 31).

Cette décomposition nous a permis de développer un modèle simple pour décrire les interactions entre la diffusion de volume et la diffusion de surface. Ce petit modèle est décrit dans la publication.

3.1.2.3 Mesures réalisées sur une large gamme de feuilles

La feuille est l’organe dont la fonction principale est de capter la lumière et de permettre les échanges gazeux (principalement dioxyde de carbone, oxygène, vapeur d’eau) avec l’atmosphère pour assurer la production de biomasse grâce à la photosynthèse. Elle peut jouer également un rôle important vis-à-vis la stratégie de gestion du rayonnement incident (excès, défaut, directionnalité) et de l’eau (interception par exemple), voire de défense contre des agresseurs divers. Certaines feuilles sont adaptées pour limiter la déperdition d’eau en période de sécheresse (densité de stomates, épaisseur et état de la cuticule, présence de poils). Ces différentes adaptations au milieu dans lequel

la plante vit porte également sur l'état de surface de la feuille. Nous nous sommes donc intéressés à évaluer la diversité de types de comportement directionnel en relation avec l'état de surface de la feuille. Cette étude à caractère exploratoire permet de situer les observations réalisées sur les feuilles de blé dans la gamme de comportements directionnels que l'on peut observer sur différentes espèces.

Cinq espèces ont été sélectionnées de manière à maximiser la variabilité d'apparence visuelle (Figure 33). Notons qu'elles sont toutes des dicotylédones et présentent un état de surface qui est grossièrement isotrope en azimuth contrairement à ce qui a été observé pour le blé qui est une monocotylédone. Des mesures au microscope électronique à balayage ont été réalisées pour appréhender la variabilité de l'état de surface et en particulier la rugosité à deux échelles différentes comme illustré Figure 33.

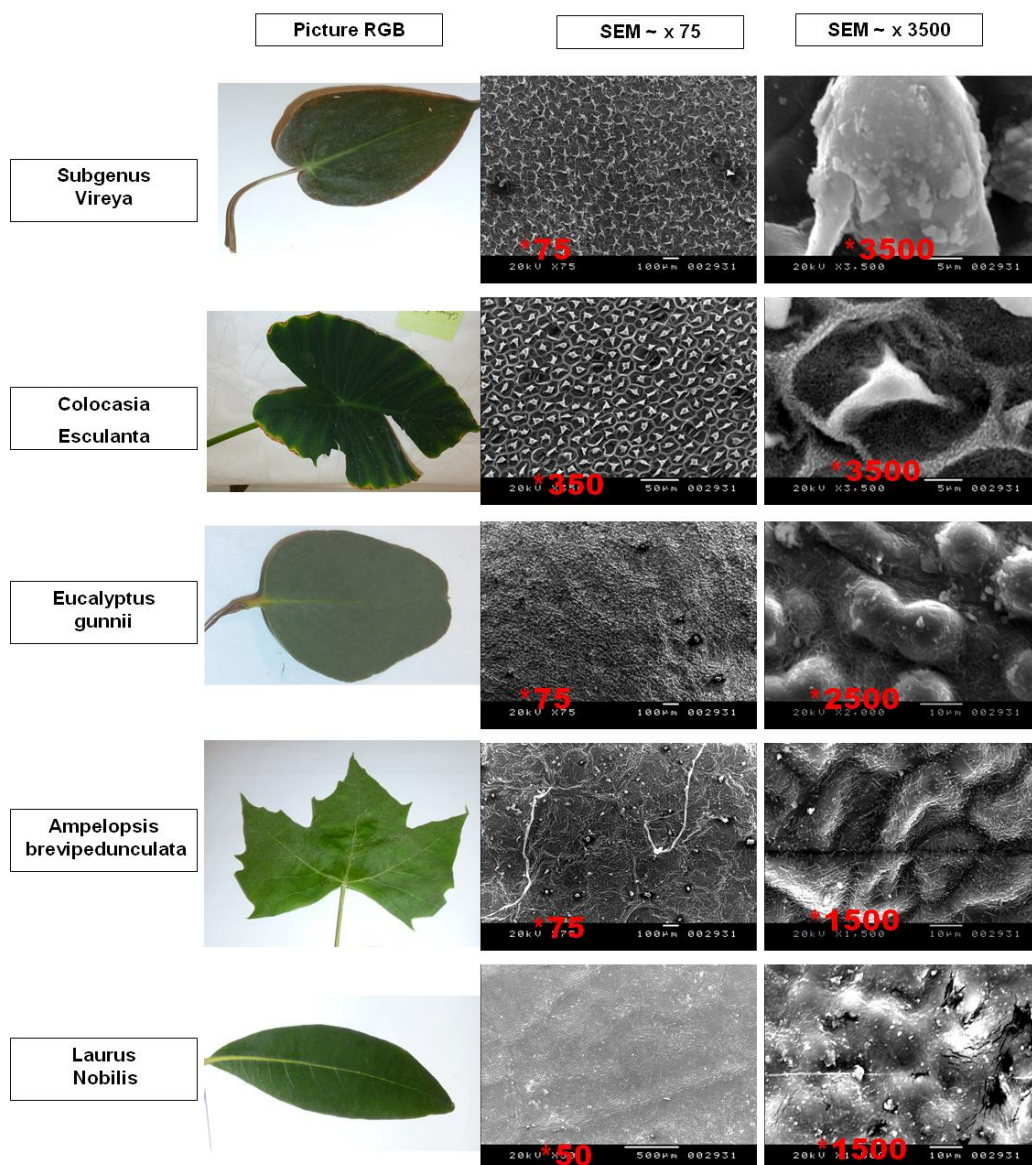


FIGURE 33: UNE SELECTION DE FEUILLES AYANT DES SURFACES TRES CONTRASTES. SUBGENUS VIREYA EST PROBABLEMENT LA FEUILLE LA PLUS RUGUEUSE ALORS QUE LAURUS NOBILIS EST LA MOINS RUGUEUSE

Le protocole de mesure de la BRDF est similaire à celui utilisé précédemment pour les feuilles de blé avec toutefois une plus forte variabilité de l'angle d'incidence avec l'ajout d'observations à 30° et 70° d'angle zénithal. Si la mesure à 45° a pu être étalonnée de manière fiable comme décrit précédemment, des incertitudes demeurent pour les deux autres angles de visée compte tenu de la difficulté évoquée précédemment de la connaissance parfaite de la BRDF des surfaces de références pour ces angles d'incidence.

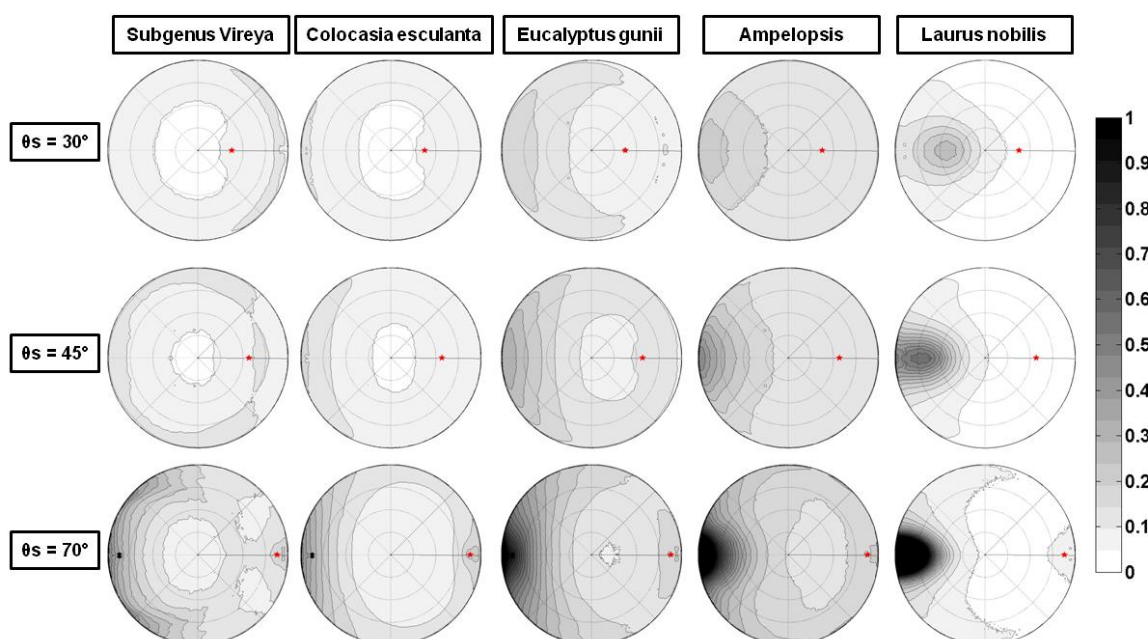


FIGURE 34: BRDF DE LA SÉLECTION DES 5 FEUILLES POUR 3 ANGLES D'INCIDENCE: 30°, 45° ET 70°. LE DIAGRAMME EST POLAIRE EN 2D.

Figure 34 et Figure 35 montrent la forte variabilité de comportement directionnel observée entre les 5 feuilles avec un gradient de 'spécularité' fort entre Subgenus Vireya peu spéculaire et associée à une rugosité de surface importante (Figure 33) et Laurus Nobilis à la surface très lisse et donc très spéculaire. Les feuilles de blé se situeraient entre Ampelopsis (vigne de collection) et Laurus Nobilis (Laurier) avec un caractère spéculaire assez marqué. Les feuilles qui ont une forte rugosité de surface présentent des valeurs de BRDF relativement fortes dans la direction d'éclairement, Cet effet étant plus marqué pour les angles d'incidence faibles. Ceci peut correspondre localement au phénomène de hot-spot (maximum local de réflectance autour de la direction d'incidence car dans cette direction on ne voit que très peu d'ombres créées par la rugosité de surface. Ceci peut également être expliqué par une composante diffuse significative qui prend naissance au niveau de la facette élémentaire.

On note l'augmentation importante du phénomène spéculaire au fur et à mesure que l'incidence devient rasante. Pour une incidence de 70°, un pic de BRDF très fort est observé dans la direction spéculaire. Ce phénomène est décrit dans la littérature (He, Li), mais son existence réelle mériterait néanmoins quelques vérifications supplémentaires. En effet ce phénomène a également été remarqué sur la référence de spectralon, et pourrait correspondre à un artefact instrumental.

Cette première analyse qualitative montre la complexité et la richesse des phénomènes de directionnalité de la réflectance des feuilles qui est en relation avec leur état de surface. Néanmoins, pour aller plus loin, il nous faut résoudre le problème d'étalonnage en grandeur physique des mesures réalisées pour les directions d'incidence différentes de 45°. Ce ne sera possible qu'en ayant accès à une description précise de la BRDF de la surface de référence réalisable grâce à un goniomètre

très précis. Alors ce jeu de données pourrait ensuite être confronté à un modèle intégrant la composante 'diffuse' au niveau de la facette afin de la valider.

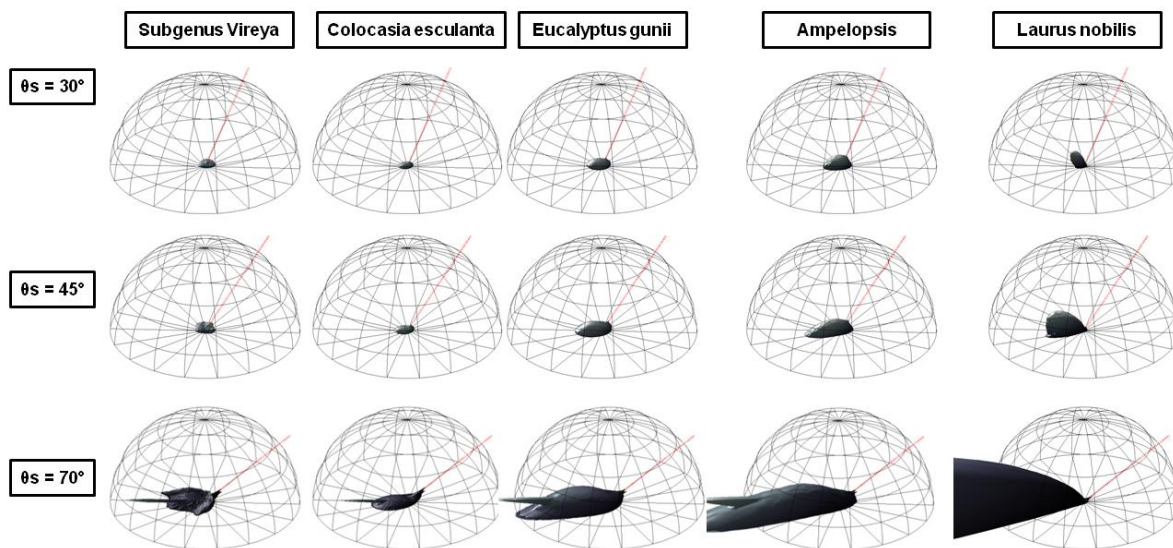


FIGURE 35: IDEM QUE FIGURE 12 SUIVANT UNE REPRESENTATION POLAIRE 3D. L'HEMISPHERE REPRESENTE LE FACTEUR DE REFLECTANCE D'UNE REFERENCE PARFAITE

3.2 Modélisation de la BRDF des feuilles de blé

Les mesures réalisées avec l'EZ-Contrast permettent d'aller au-delà de la description phénoménologique précédente en utilisant une description physique des processus. Les modèles physiques présentent en effet de gros avantages : ils permettent de simuler dans le sens direct la BRDF dans des configurations qui n'ont pas pu être mesurées et qui sont importantes pour les différentes applications que nous envisageons. D'autre part, l'inversion du modèle permet de transformer des mesures directionnelles en paramètres décrivant les propriétés de la surface. De plus les modèles peuvent valider/invalidier les hypothèses que nous avons posées pour quantifier le signal directionnel.

3.2.1 Revue des modèles disponibles

3.2.1.1 Les modèles actuels de BRDF et leurs limites

La plupart des modèles de BRDF sont issus de la communauté scientifique travaillant sur l'image de synthèse (computer graphics). La Figure 36 schématise les différentes composantes de la BRDF. La plupart des modèles (K. E. Torrance & Sparrow 1967; R. L. Cook & K. E. Torrance 1981; He et al. 1991; Ward 1992; M. Oren & Shree K. Nayar 1994; Ashikmin et al. 2000; H. Li & K. E. Torrance 2005; Simonot 2009) considèrent que:

- La surface est constituée de micro-facettes caractérisées par la distribution de leur pente.
- Une fonction permet de prendre en compte le masquage/ombrage des facettes entre elles comme proposé dans la Figure 37. Elle dépend de la micro-topographie de la surface.
- Un 'fond' généralement caractérisé par une réflectance et une transmittance diffuse, constitue l'interface entre la surface composée des micro-facettes et le volume de l'objet.

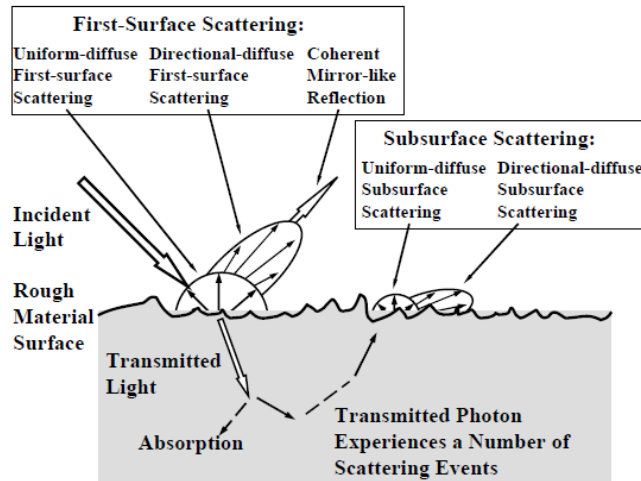


FIGURE 36: DESCRIPTION SCHEMATIQUE DU MODELE DE MICRO-FACETTE PROPOSE PAR (HONGSONG LI & KENNETH E. TORRANCE 2005)

Certains modèles incluent également une description de la polarisation de la lumière. Le Tableau 4 explicite les spécificités des principaux modèles répertoriés qui peuvent s'appliquer à la description de la BRDF des feuilles. On note que la plupart des modèles associent aux facettes un indice de réfraction n utilisé dans les équations de Fresnel pour décrire la réflexion spéculaire, et un (ou plusieurs) paramètre(s) de rugosité qui définissent la distribution des pentes des micro-facettes. Un paramètre caractérisant la fonction d'ombrage/masquage. Un dernier paramètre caractérise la diffusion de volume.

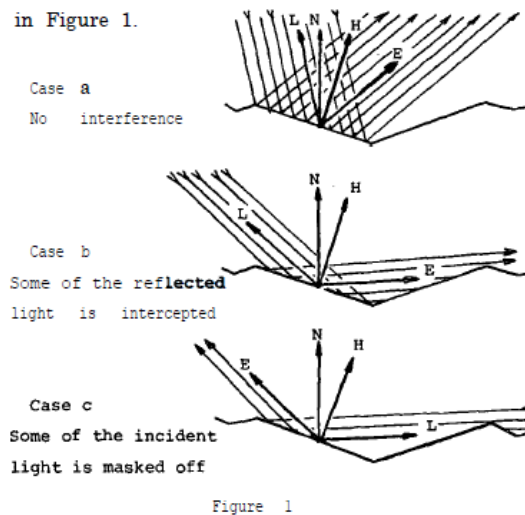


FIGURE 37: FIGURE REPRESENTANT LE MASQUAGE OMBRAGE DES FACETTES SELON BLINN (1977).

TABLEAU 4: DESCRIPTION DES PRINCIPALES PROPRIETES DES DIFFERENTS MODELES ETUDIES POUR SIMULER LA REFLECTANCE DES FEUILLES.

Composante considérée	(K. E. Torrance & Sparrow 1967)	(R. L. Cook & K. E. Torrance 1981)	(He et al. 1991)	(Ward 1992)	(M. Oren & Shree K. Nayar 1994)	(Ashikmin et al. 2000)	(H. Li & K. E. Torrance 2005)	(Simonot 2009)
Propriété de la partie diffuse	Lambert	Lambert	Lambert	Lambert	Modélisation de la partie diffuse, sans spéculaire	Lambert	3 composantes pour le prendre en compte	Deux couches interagissant ensembles
Propriétés des facettes	Spéculaires Fresnel	Spéculaires Fresnel	Spéculaires Fresnel	Spéculaires Pas de Fresnel	Diffuse (Lambert)	Spéculaires Fresnel Possibilité de mettre d'autres propriétés	Spéculaires Fresnel	Spéculaires Fresnel
Distribution des pentes des facettes	Gaussienne	(Beckmann 1965) (Gaussienne des pentes)	Suite gaussienne complexe	(Beckmann 1965) (Gaussienne des pentes) Anisotropie	Gaussienne	(Beckmann 1965) (Gaussienne des pentes) Anisotropie	Reprise du travail de (He et al. 1991) Définition de la rugosité apparente et effective	Gaussienne
Masquage ombrage	Facettes en V + discussions conséquences	Facettes en V selon démonstration de (Blinn 1977)	Hypothèses de (B. Smith 1967)	Absence	Facettes en V selon démonstration de (Blinn 1977)	Approche plus numérique, et se calcule à partir de la distribution	Hypothèses de (B. Smith 1967)	Absence
Autres	Polarisation discutée	RAS	Polarisation discutée Spéculaire pur	Hypothèse de compensation de Fresnel et Masquage ombrage	Contribution à l'amélioration de la compréhension de la partie diffuse	Contribution du modèle : amélioration du masquage ombrage. Les autres composantes sont modifiables	Spéculaire pur 2 composantes de diffusion sous surfaciques	Modèle permettant de combiner (R. L. Cook & K. E. Torrance 1981) et (M. Oren & Shree K. Nayar 1994) avec les lois de (Stokes 1860), Alternative à (He et al. 1991) et (H. Li & K. E. Torrance 2005)

Notons également d'autres modèles potentiellement intéressants : (B. Walter et al. 2007) a ainsi proposé un modèle de micro-facettes permettant de simuler la transmittance d'objet translucide. (Poulin & Fournier 1990) ont proposé un modèle anisotrope basé sur des cylindres étant eux même composés de micro-facettes.

3.2.1.2 Les modèles de BRDF de feuilles

Très peu d'études ont tenté de décrire la BRDF mesurée de feuilles à partir d'un modèle physique de BRDF. Les seuls travaux disponibles sont ceux de (L. A. Bousquet 2007; L. Bousquet et al. 2005) et concernent le laurier, le hêtre et le noisetier, toutes étant des espèces dicotylédones. Les principaux résultats de ce travail sont représentés Figure 38.

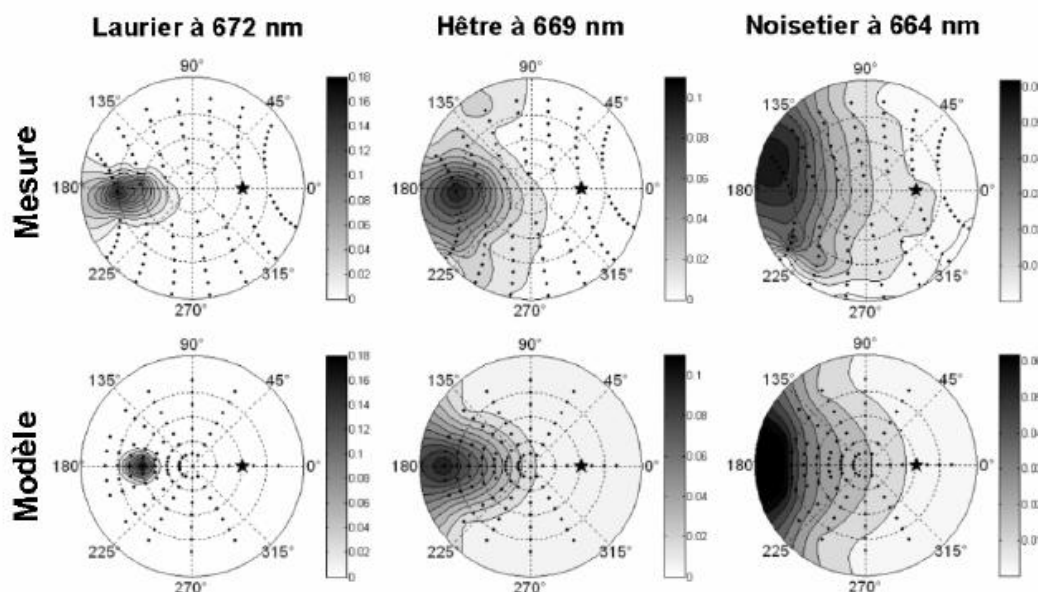


Figure 3.12 : BRDF (sr^{-1}) mesurée et modélisée aux longueurs d'onde des maximums d'absorption pour des feuilles de laurier, hêtre et noisetier. L'angle d'incidence est de 40° .

	Indice de réfraction \bar{n}	Paramètre de rugosité $\bar{\sigma}$
Laurier	1,22	0,078
Hêtre	1,56	0,29
Noisetier	1,68	0,46

Tableau 3.2 : Paramètres de surface des feuilles estimés par inversion. Moyenne spectrale sur le domaine 482-882 nm.

FIGURE 38: RESULTATS DE L'INVERSION DU MODELE DE COOK TORRANCE POUR DES MESURES REALISEES SUR UN GONIOMETRE. CE FUT UNE PARTIE DU TRAVAIL DE THESE DE (L. A. BOUSQUET 2007)

Cette étude fournit plusieurs enseignements:

- Le modèle de Cook-Torrance s'ajuste relativement bien aux feuilles de dicotylédones considérées.
- L'inversion du modèle fournit un indice de réfraction relativement fort et peu réaliste : d'autres travaux sur la polarisation de la feuille suggèrent un indice de réfraction aux alentours de 1.4 (V. C. Vanderbilt & Grant 1986). Par contre les indices de rugosités semblent être cohérents avec l'observation : le laurier feuille lisse a un paramètre de rugosité plus faible que celui du noisetier dont la feuille est 'duveteuse'.

Appliquer le modèle de (R. L. Cook & K. E Torrance 1981) aux feuilles semblent donc pertinent et constituera pour nous une référence. Toutefois, le modèle ne permet pas de représenter

l'anisotropie azimutale de la BRDF observée sur blé, liée à l'orientation azimutale privilégiée des facettes en relation avec l'orientation des veines de la feuille.

3.2.2 Extension du modèle de Cook et Torrance cas anisotrope des feuilles de blé

Le problème de l'anisotropie azimutale liée à la présence des veines longitudinales des feuilles de monocotylédones doit être pris en compte dans modélisation de la BRDF des feuilles. Dans ce papier nous avons uniquement exploré une modélisation « simple » pour étendre le modèle de Cook et Torrance déjà testé sur les feuilles de dicotylédones par (L. Bousquet et al. 2005).

3.2.2.1 Définition du modèle

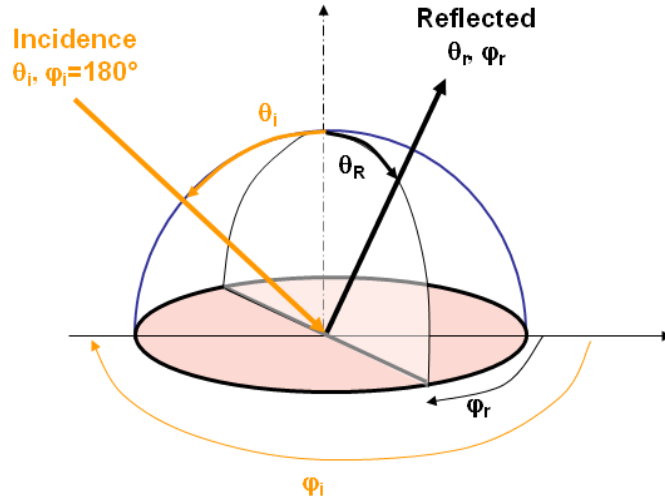


FIGURE 39: REPRESENTATION DES DIFFERENTS ANGLES UTILISES POUR LA MODELISATION DE LA BRDF DES FEUILLES

Afin d'alléger la démonstration pour construire le modèle de micro-facettes de manière cohérente avec celui de Cook et Torrance, nous considérerons uniquement la configuration de mesure correspondant à celle du conoscope. Pour une discussion plus générale sur la validité de ce modèle quelles que soient les configurations, se référer à l'article en l'annexe.

Il s'agit de déterminer l'expression de la BRDF d'une surface représentée par une succession de micro-facettes dont on connaît la probabilité d'occurrence des pentes dans les deux directions azimutales. On se restreint ici au cas de micro-facettes spéculaires. Pour la commodité de la démonstration, on suppose que les micro-facettes présentent la même surface a . Pour rappel, la BRDF f_r s'écrit :

$$f_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{L_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)}{E_i(\theta_i, \varphi_i)}$$

Avec L_r la luminance et E_i l'éclairement qui se définissent :

$$E_i(\theta_i, \varphi_i) = \frac{d\Phi_i(\theta_i, \varphi_i)}{dS}$$

$$L_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{d^2\Phi_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)}{dS \cos(\theta_r) d\omega_r}$$

Avec $d\Phi_i$ le flux incident sur la surface dS considérée, $d^2\Phi_r$ le flux réfléchi et $dS \cos(\theta_r) d\omega_r$ l'étendue géométrique considérée pour le flux.

Pour établir le modèle, il suffit de déterminer l'expression du flux $d^2\Phi_r$ de la luminance. Il s'établit comme le produit de quatre facteurs :

- le nombre $n_\mu(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)$ de microfacettes concernées, c'est-à-dire celles dont la normale correspond à la direction bissectrice entre la direction d'incidence et la direction de réflexion : $n_\mu(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = P(\alpha, \beta) \delta\omega_h n_{tot}$ où $\delta\omega_h$ est l'angle solide contenant les normales des micro-facettes concernées et n_{tot} , le nombre total de microfacettes
- le flux Φ_μ reçu par microfacette : $\Phi_\mu(\theta_h) = a E_0 \delta\omega_h$
- la fraction $F(n, \theta_h)$ de lumière réfléchiée par une micro-facette, donnée par la formulation de Fresnel ;
- le facteur d'atténuation géométrique $SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)$ due à l'auto-ombrage et masquage de la surface.

En regroupant l'ensemble des facteurs on peut exprimer la luminance de la manière suivante :

$$L_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{a E_0 \delta\omega_h P(\alpha, \beta) \delta\omega_h n_{tot}}{S_L \cos(\theta_r) \delta\omega_r} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h)$$

Cette expression se simplifie en considérant les deux points suivant :

- la relation géométrique entre les angles solides $\delta\omega_r$ et $\delta\omega_h$: $\delta\omega_r = 4 \cos(\theta_h) \delta\omega_h$. Les publications de références pour justifier cette relation sont : (RENSE 1950; Papetti et al. 2007; S. K. Nayar et al. 1991)
- le lien entre le nombre total de micro-facettes n_{tot} et la surface S_L . Pour établir ce lien, on suppose que la surface soit un « champ de hauteurs » i.e. pour lesquelles les normales des micro-facettes soient nécessairement situées dans l'hémisphère supérieur :
 $P(\alpha, \beta) = 0$ if $\cos(\alpha) < 0$

On a alors :
$$S_L = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} a n_{tot} P(\alpha, \beta) \cos(\alpha) \sin(\alpha) d\alpha d\beta$$

L'aire a des micro-facettes étant supposée constante, elle peut être sortie de l'intégrale :

$$S_L = a n_{tot} P_{int} \quad \text{où} \quad P_{int} = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} P(\alpha, \beta) \cos(\alpha) \sin(\alpha) d\alpha d\beta$$

La luminance peut alors s'écrire :
$$L_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} \frac{E_0}{4 \cos(\theta_r)} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h)$$

Si on considère que la surface éclairée est plus large que la surface mesurée, on a alors :

$$f_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} \frac{1}{4 \cos(\theta_r) \cos(\theta_i)} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h)$$

Ce cas est le plus fréquent et correspond à notre configuration de mesure. D'autres cas sont possibles et ont été discutés en annexe de ma publication. Comme notre mesure s'effectue en facteur de réflectance le modèle final s'écrit :

$$\rho_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \pi \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} \frac{1}{4 \cos(\theta_i) \cos(\theta_r)} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h)$$

Notons que la construction d'un modèle de micro-facettes a pour la première fois été publiée par Torrance and Sparrow [1967]. Son équation finale était cependant fautive (B. Walter et al. 2007). La nouveauté de notre modèle réside dans la définition de $P(\alpha, \beta)$ qui reprend le travail de (Ward 1992). Cependant ce dernier a préféré simplifier son modèle et le normaliser différemment.

3.2.2.2 Ajout d'une distribution anisotrope

Prenons la distribution proposée par (Beckmann 1965) et reprise par (R. L. Cook & K. E Torrance 1981) et par (L. Bousquet et al. 2005) s'écrit: $P(\alpha, \beta) = \frac{c(\sigma)}{\cos^4(\alpha)} \exp\left(-\left(\frac{\tan(\alpha)}{\sigma}\right)^2\right)$

Remarquons que $c(\sigma)$ est une fonction qui dépend de la rugosité inconnue mais telle que $P(\alpha, \beta)$ est une probabilité. Il est alors possible de calculer P_{int} . Deux méthodes peuvent être utilisées, soit en utilisant un dérivateur formel tel que MATHEMATICA, soit en faisant un changement de variable $\xi = \tan(\alpha)$. Dans les deux cas on obtient : $P_{int} = \sigma^2 \pi c(\sigma)$

Il est intéressant de préciser que les travaux de (R. L. Cook & K. E Torrance 1981; L. Bousquet et al. 2005) n'incluent pas une probabilité d'apparition des facettes mais une distribution qui s'écrit $D(\alpha, \beta)$ et correspond à : $D(\alpha, \beta) = \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} = \frac{1}{\sigma^2 \cos^4(\alpha)} \exp\left(-\left(\frac{\tan(\alpha)}{\sigma}\right)^2\right)$

Si l'on se base sur les travaux de (Ward 1992) on peut étendre la probabilité d'apparition des pentes des facettes en considérant deux rugosités orthogonales (σ_x, σ_y):

$$P(\alpha, \beta) = \frac{c(\sigma_x, \sigma_y)}{\cos^4(\alpha)} \exp\left(-\tan^2(\alpha) \left(\frac{\cos^2(\beta)}{\sigma_x^2} + \frac{\sin^2(\beta)}{\sigma_y^2}\right)\right)$$

La fonction $c(\sigma_x, \sigma_y)$ qui vérifie les propriétés de $P(\alpha, \beta)$ comporte donc deux paramètres (σ_x, σ_y) :

$$P_{int} = c(\sigma_x, \sigma_y) \pi \sigma_x \sigma_y$$

Dans le cas anisotrope azimutalement, le terme $D(\alpha, \beta)$ s'écrit finalement:

$$D(\alpha, \beta) = \frac{1}{\sigma_x \sigma_y \cos^4(\alpha)} \exp\left(-\tan^2(\alpha) \left(\frac{\cos^2(\beta)}{\sigma_x^2} + \frac{\sin^2(\beta)}{\sigma_y^2}\right)\right)$$

Remarquons que si ($\sigma_x = \sigma_y$) alors on retrouve l'expression du cas isotrope de (R. L. Cook & K. E Torrance 1981). C'est l'intégration de cette distribution dans le modèle général de micro-facette qui constitue notre contribution à la modélisation de la BRDF des objets.

3.2.2.3 Ajustement du modèle de BRDF aux mesures sur feuilles de blé

Le modèle étant défini, il s'agit d'ajuster ses paramètres de manière à minimiser l'écart entre la simulation du modèle et la mesure. En pratique la minimisation est un peu plus complexe car nous avons voulu pondérer chaque mesure afin de représenter de manière homogène l'hémisphère.

La Figure 40 représente l'ajustement du modèle suivant deux représentations. L'ajustement montre que le modèle arrive à prendre en compte l'anisotropie décrite dans la partie précédente, en changeant la forme du lobe spéculaire en fonction de l'azimut. Visuellement, des différences persistent entre les mesures et le modèle, à la fois dans les zones où le spéculaire doit dominer, mais aussi dans les autres directions. Essayons de quantifier l'erreur du modèle.

Nous avons établis 3 métriques qui permettent de comparer le modèle aux mesures, ces trois métriques sont apparentées à un RMSE.

- La première métrique, $RMSE$, correspond à un RMSE classique où chaque observation (directions) a le même poids :

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{\varphi_i=[0 \ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} (BRF - \overline{BRF})^2}{n-1}}$$

- La deuxième métrique, $RMSE_{fit}$ est construite de manière à donner autant de poids à chaque couronne de l'hémisphère. En effet les mesures issues du conoscope dans le mode sélectionné surreprésentent les mesures proches du Nadir. C'est la métrique utilisée pour inverser le modèle :

$$RMSE_{fit} = \sqrt{\frac{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} \sin(\theta_r) (BRF - \overline{BRF})^2}{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} \sin(\theta_r)}}$$

- La troisième métrique, $RMSE_{DHRF}$, pondère les mesures de la même manière que pour le calcul de la DHRF. Ainsi c'est la métrique à comparer avec les valeurs de DHRF.

$$RMSE_{DHRF} = \sqrt{\frac{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} \cos(\theta_r) \sin(\theta_r) (BRF - \overline{BRF})^2}{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} \cos(\theta_r) \sin(\theta_r)}}$$

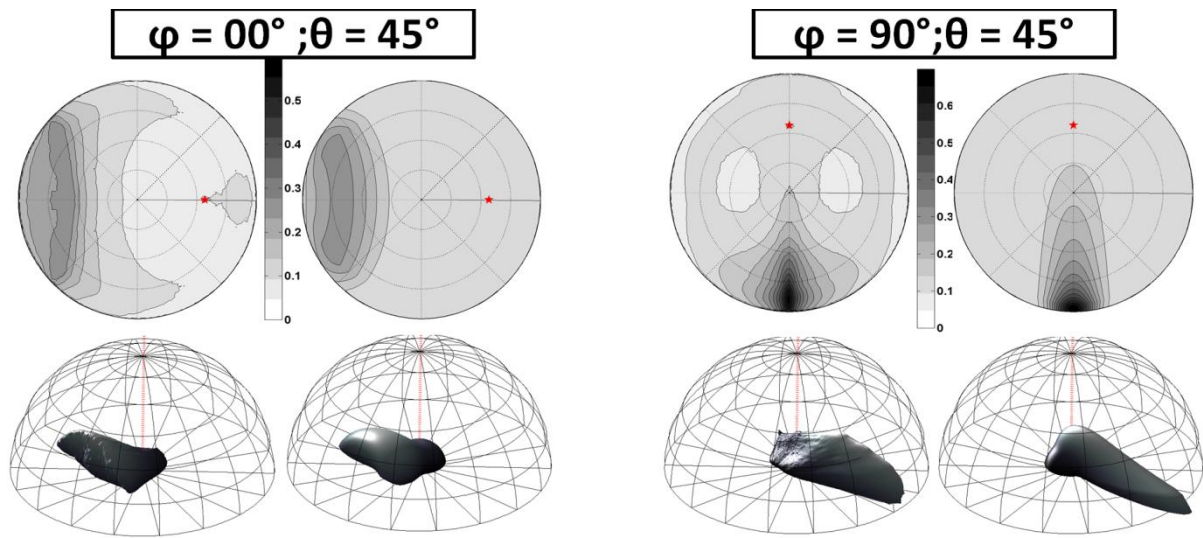


FIGURE 40: MESURES A GAUCHE ET MODELE AJUSTE A DROITE POUR LES DEUX CONFIGURATIONS D'ANGLE INCIDENT

Afin d'évaluer les performances de notre modèle, nous l'avons comparé à un modèle lambertien et au modèle de Cook-Torrance qui ne prend pas en compte l'anisotropie azimutale. Nous avons inversé le modèle indépendamment pour chacune des trois bandes spectrales disponibles.

Les résultats montrent :

- Un meilleur ajustement est obtenu avec le modèle de Cook Torrance, qu'avec le modèle lambertien. Cela montre qu'une modélisation physique est utile pour interpréter les mesures directionnelles, même si ce dernier n'est pas parfait.
- Ajouter une rugosité supplémentaire au modèle de Cook Torrance permet de mieux modéliser le comportement de la feuille de blé : le $RMSE_{DHRF}$ passe ainsi de 0.039 à 0.029.
- Conformément aux attentes le modèle s'ajuste globalement de la même manière pour les 3 longueurs d'ondes. Les rugosités estimées de manière indépendante pour les trois bandes spectrales considérées ont des valeurs très proches comme on l'espérait. Les rugosités trouvées se situent de manière attendue entre celles de la feuille de hêtre et de la feuille de noisetier dans l'étude de Bousquet. Seule la BRF_{diff} varie sensiblement avec la bande spectrale, dépendante de l'absorption par la chlorophylle dans le volume de la feuille.
- L'indice de réfraction ne varie que très peu avec la bande spectrale comme on l'attendait. La valeur estimée avec le nouveau modèle est légèrement supérieure à celle estimée avec le modèle de Cook et Torrance.

TABLEAU 5 : AJUSTEMENT DES DIFFERENTS MODELES AUX MESURES DE BRF DE FEUILLE DE BLE

Model	Variables properties	Species	Wheat		
			$x(\lambda)$: red	$y(\lambda)$: green	$z(\lambda)$: blue
Lambertian model	Goodness of fit	$RMSE_{fit}$	0.072	0.076	0.074
		$RMSE_{DHRF}$	0.066	0.069	0.067
		$RMSE$	0.063	0.066	0.065
	Retrieved parameters	$BRF_{diff} (DHRF_{diff})$	0.118	0.138	0.113
Cook-Torrance model	Goodness of fit	$RMSE_{fit}$	0.044	0.047	0.046
		$RMSE_{DHRF}$	0.038	0.040	0.039
		$RMSE$	0.039	0.041	0.040
	Retrieved parameters	n	1.26	1.27	1.27
		σ	0.225	0.229	0.250
		$BRF_{diff} (DHRF_{diff})$	0.095	0.114	0.088
New model including azimuth anisotropy	Goodness of fit	$RMSE_{fit}$	0.034	0.036	0.033
		$RMSE_{DHRF}$	0.028	0.029	0.027
		$RMSE$	0.029	0.031	0.029
	Retrieved parameters	n	1.31	1.32	1.33
		σ_x	0.182	0.184	0.194
		σ_y	0.456	0.464	0.502
		$BRF_{diff} (DHRF_{diff})$	0.089	0.108	0.081

Le nouveau modèle semble mieux modéliser le comportement des feuilles de blé. Toutefois, il est intéressant de mieux comprendre la structure des erreurs.

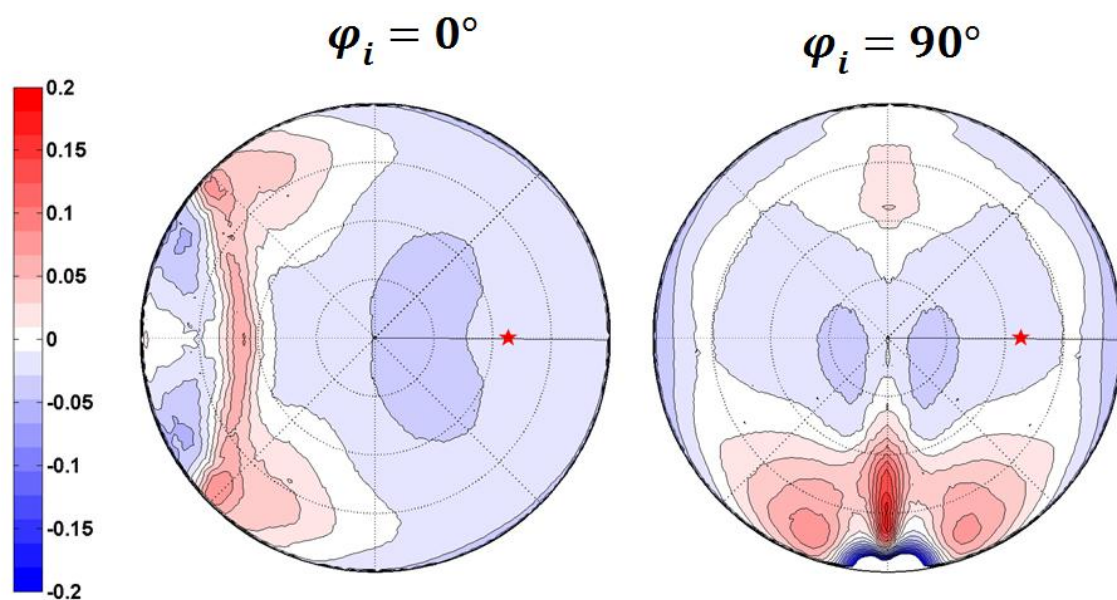


FIGURE 41: ERREUR ENTRE LA MESURE ET LE MODELE. EN BLEU LES MESURES SONT INFÉRIEURES AU MODELE ET EN ROUGE LES MESURES SUPÉRIEURES AU MODELE.

La Figure 41 montre que les erreurs se situent dans 4 zones bien distinctes :

- La zone où le spéculaire est modélisé. Du fait de la présence de fortes valeurs de BRF, ce sont les zones où l'erreur est la plus importante en valeur absolue. Dans cette zone le modèle a tendance à sous-estimer la BRF mesurée (zone rouge).
- Les zones périphériques au lobe spéculaire. De la même manière le modèle sous estime la mesure.
- Les zones diffuses : le modèle surestime le diffus de manière plus ou moins forte.
- Le retro-spéculaire (ou hot-spot ?) : cette zone est surtout observée lorsque la direction d'incidence est perpendiculaire au système vasculaire. Le modèle ne prenant pas en compte ce phénomène, il sous-estime la mesure.

Ces résultats présentent une certaine similitude avec ceux qu'avait observés Bousquet. Il serait intéressant de tester l'intérêt de décrire les propriétés des facettes en leur ajoutant une composante lambertienne comme l'ont proposé (M. Oren & Shree K. Nayar 1994). Il serait également judicieux de coupler une modélisation physique des effets de surface telle que décrite précédemment, avec une modélisation de la diffusion de volume telle que proposée dans le modèle PROSPECT.

3.3 Prise en compte des propriétés directionnelles des feuilles de blé sur le couvert

L'intérêt de connaître et de modéliser de manière précise les propriétés directionnelles des feuilles pour le phénotypage haut débit est double :

- Cela permet d'optimiser les systèmes de mesure des propriétés optiques des feuilles en prenant en compte leur spécificité directionnelles. En effet si l'opérateur souhaite faire des mesures de BRF ou BTF pour estimer la composition biochimique de la feuille, il est utile de déterminer les différentes configurations optimales pour réaliser la mesure.
- Améliorer la modélisation le couvert végétal. En effet la plupart des modèles de transfert radiatif considèrent la feuille comme lambertienne, et peu d'études ont abordé les conséquences d'une telle hypothèse. Les rares études disponibles sur le sujet (Chelle 2006; J. Stuckens et al. 2009) rapportent des résultats contradictoires.

C'est ce deuxième point qui va être discuté dans cette partie.

3.3.1 Les différentes modélisations du couvert végétal et leurs utilités

Au niveau du couvert, on peut schématiquement classer les modèles de transfert radiatif en fonction de leur complexité à représenter le couvert végétal. Ainsi le modèle le plus simple considère le couvert végétal comme un milieu turbide (« une soupe ») de feuilles (1D), et les modèles les plus complexes intègrent une représentation 3D du couvert couplée à un lancer de rayon et un modèle de propriétés optiques des feuilles.

Voici schématiquement les principales tendances dans la modélisation du transfert radiatif du couvert végétal que l'on retrouve dans la communauté « télédétection ».

- PROSAIL : association du modèle SAIL (W. Verhoef 1985) avec le modèle PROSPECT (S. Jacquemoud & F. Baret 1990). Le modèle est simple et comporte peu de variables d'entrée. En effet le couvert est décrit par un LAI, un angle foliaire moyen. Les propriétés optiques des feuilles sont décrites par le modèle PROSPECT, les feuilles étant supposées bi-lambertiennes. Le sol est caractérisé par une BRF.
- Modélisation 3D d'un couvert végétal. A partir d'une représentation tridimensionnelle de la structure du couvert, des méthodes de lancer de rayons ou de radiosité peuvent être appliquées pour simuler la BRF de la scène correspondante. Ces méthodes ont également la

capacité de prendre en compte les propriétés directionnelles des éléments du couvert. C'est donc à cette catégorie de modèle que nous nous intéresserons ici

- Modèles hybrides. Cette catégorie suppose que la scène peut être représentée par un ensemble de primitives 'volume' (cubes, sphères, ellipsoïdes, cônes) représentant des éléments du couvert (plante, couronne, agrégat de feuille). Ces primitives sont supposées remplies de milieu turbide. On retrouve donc ici les limitations des milieux turbides concernant la description des propriétés directionnelles des feuilles.

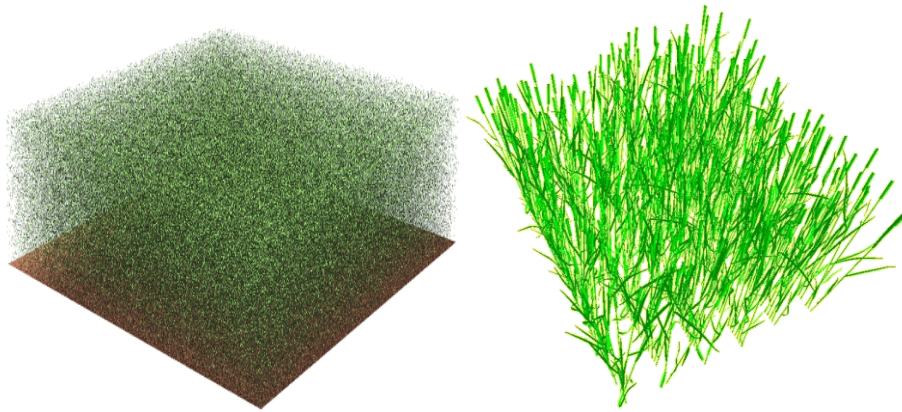


FIGURE 42: UNE REPRESENTATION 3D DES HYPOTHESES D'UN MODELE DE TYPE SAIL (GAUCHE) COMPAREE A UNE REPRESENTATION 3D (DROITE) D'UN COUVERT DE BLE AVEC 16CM D'INTER-RANG ET 300 TIGES PAR M² TEL QUE SIMULE PAR LE MODELE ADEL-WHEAT.

Notons qu'il existe une initiative européenne nommée RAMI pour Radiation transfer Model Intercomparison (<http://rami-benchmark.jrc.ec.europa.eu/HTML/Home.php>), qui compare les différents modèles disponibles. RAMI s'intéresse à la réflectance à l'échelle du couvert, sans chercher également à valider les images de réflectance qui peuvent être simulées utilement pour des applications en phénotypage haut-débit.

C'est donc vers une modélisation 3D que nous nous sommes orientés pour évaluer l'impact de la directionnalité des feuilles sur la réflectance du couvert. Nous avons utilisé le modèle de lancer de rayons développé par D. Meneveaux qui accepte en entrée :

- Les caractéristiques des sources
- Les caractéristiques des capteurs
- La description de la structure du couvert ici décomposée en triangles élémentaires
- La description de la BRDF de chaque triangle. On s'appuiera ici sur les différents modèles mis en œuvre précédemment.

Le modèle fournit simule une image de la scène en luminance ou en BRF dans trois bandes spectrales (généralement, bleu, vert, rouge). Dans sa version actuelle, le modèle ne permet pas de prendre en compte une transmittance diffuse des triangles (feuilles). Cette limitation n'est sans doute pas dramatique dans la mesure où la transmittance des feuilles dans le domaine spectral du visible est négligeable.

3.3.2 Intégration de la BRDF des feuilles dans un modèle décrivant le couvert

Intégrer un modèle de BRDF d'une surface nécessite de réécrire le modèle sous forme de vecteur afin d'optimiser le temps de calcul. C'est ce que nous avons fait nous inspirant du travail de (B. Walter 2005).

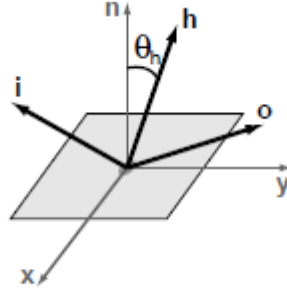


Figure 2: Coordinate frame used in BRDF calculations. The z-axis is equal to the local surface normal \mathbf{n} , and the x and y axes lie in the surface's tangent plane. The BRDF is a function of two directions, the incident direction, \mathbf{i} , and out direction \mathbf{o} (e.g., the directions to the eye and light). The half direction \mathbf{h} is defined to lie midway between \mathbf{i} and \mathbf{o} , and plays an important role in the Ward BRDF.

FIGURE 43: NOTATION VECTORIELLE CLASSIQUEMENT UTILISEE DANS LA COMMUNAUTE DE LA SYNTHESE D'IMAGE. FIGURE ISSUE DE LA PUBLICATION DE (B. WALTER 2005)

Si l'on considère le système de coordonnées défini Figure 43, on peut écrire le modèle simplement :

$$\rho_r(\vec{l}, \vec{o}) = \frac{\pi}{4(i.n)(o.n)} \frac{1}{\sigma_x \sigma_y (h.n)^4} e^{\left(-\frac{(h.x/\sigma_x)^2 + (h.y/\sigma_y)^2}{(h.n)^2} \right)} SM(\vec{l}, \vec{o}) F(\vec{l}, h)$$

Avec le facteur de masquage ombrage $SM(\vec{l}, \vec{o})$:

$$SM(\vec{l}, \vec{o}) = \min(1, 2(n.h)(n.o)/(o.h), 2(n.h)(n.i)/(o.h))$$

Et $F(\vec{l}, h)$ le facteur de Fresnel qui peut soit être approximé, soit être calculé de manière exacte. L'approximation la plus classique étant celle de (Schlick 1994).

Il faut ensuite définir l'orientation de chaque feuille. La méthode classique de la communauté de rendu d'image est d'insérer une texture orientée par rapport à l'objet. Ceci n'est pas approprié dans notre cas. Nous avons préféré définir l'orientation de la rugosité de chaque triangle composant une feuille à l'aide d'un de ses cotés (Figure 44). Ceci a été rendu possible grâce à une description simple de la feuille.

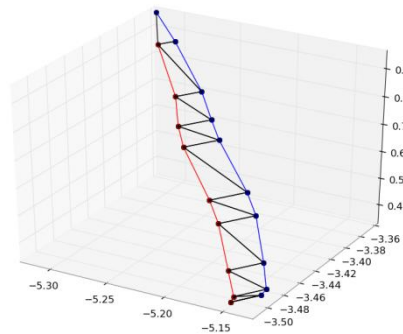


FIGURE 44: LES COTES DES TRIANGLES DES FEUILLES SONT DEFINIS DE TELLES MANIERES POUR QU'ILS ORIENTENT L'ANISOTROPIE DU MODELE. AINSI LES COTE BLEU ET ROUGE INDIQUE LE SENS DU SYSTEME VASCULAIRE DE LA PLANTE.

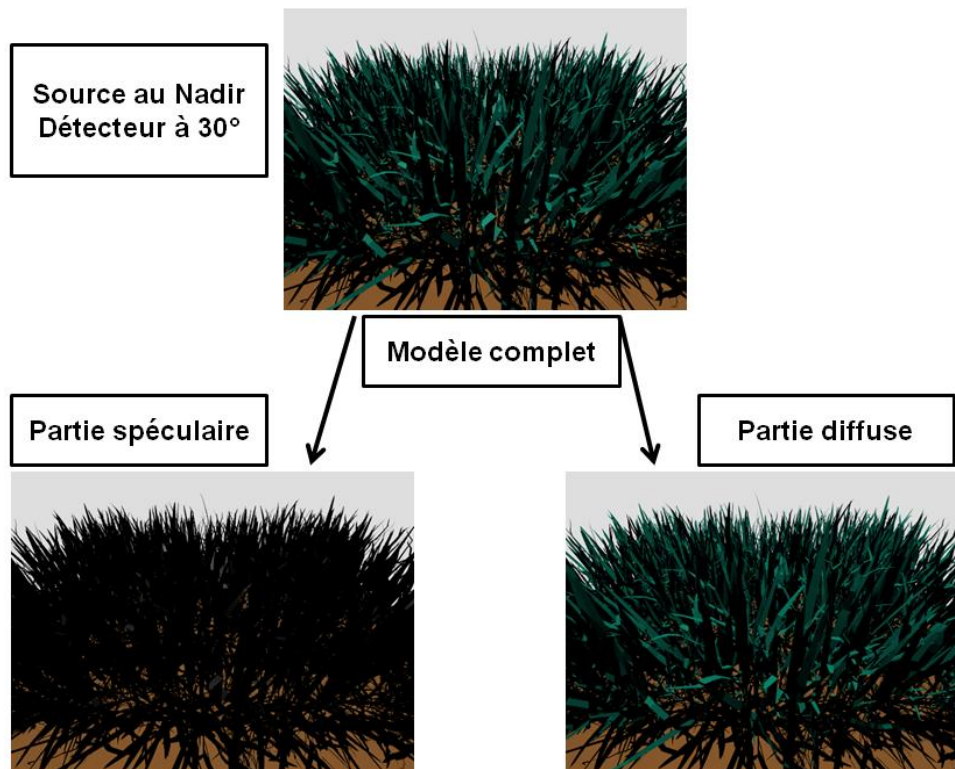


FIGURE 45: TENTATIVE DE DECOMPOSITION DU SPECULAIRE ET DE LA PARTIE DIFFUSE DANS LA MODELISATION DU TRANSFERT RADIATIF D'UN COUVERT VEGETAL. SEULE LA PREMIERE INTERACTION EST PRISE EN COMPTE

Trois scènes ont été générées correspondant à 3 hypothèses de directionnalité des feuilles :

- Feuille purement lambertienne
- Feuille purement spéculaire
- Feuille avec une composante lambertienne et une composante spéculaire

Les images correspondant aux trois hypothèses de directionnalité des feuilles sont représentées Figure 45. Dans cette configuration particulière, l'image correspondant à l'hypothèse spéculaire est très sombre. On ne voit nulle part des 'éclats blancs' qui seraient observés sur les feuilles étant orientées de telle manière que le lobe spéculaire serait orienté vers le capteurs. L'image correspondant à l'hypothèse 'lambertienne' montre des valeurs plus fortes avec une variabilité liée à la direction d'incidence locale au niveau de la feuille. L'image correspondant à l'hypothèse 'spéculaire et lambertienne' est la somme des deux images précédentes. La composante diffuse est majoritaire.

D'autres tests complémentaires méritent d'être réalisés pour confirmer la possibilité de décomposer la BRF mesurée au niveau du couvert, en une composante diffuse et une composante spéculaire. Il serait également intéressant de confirmer, toujours au niveau du couvert, que l'hypothèse d'anisotropie azimutale de la BRDF de la feuille est équivalente à l'isotropie azimutale (les deux paramètres de rugosité de surface sont égaux). Néanmoins, cette étude qualitative préliminaire a permis de montrer que des outils d'interprétation sont disponibles pour évaluer l'impact de différentes hypothèses sur la directionnalité des feuilles sur la réflectance du couvert.

4. Conclusion générale

Tout au long de ces travaux, j'ai essayé de satisfaire la double contrainte d'une thèse CIFRE : l'exigence d'un travail qui répond à la fois à des besoins concrets de l'entreprise : Arvalis Institut du Végétal alliée à l'exigence académique. Ainsi ce manuscrit est composé d'une partie plus axée sur le phénotypage haut débit et les variables qui peuvent être obtenues avec les méthodes actuelles. La seconde partie est davantage focalisée sur des questions plus théoriques dont le but est de faire progresser les modèles utilisés dans la première partie.

Ce travail de thèse a abouti à un premier prototype de système d'acquisition et de chaîne de traitement des données inspirés des travaux classiques de télédétection. Il nous a permis de valider différents concepts :

- la complémentarité entre résolution spatiale (appareil photo) et spectrale (spectromètre).
- A l'aide de ces informations une première chaîne de traitement a été développée. Elle fournit des variables d'intérêt sous forme d'indices spectraux pertinents. Il a également été possible d'estimer le FiPAR.
- La disponibilité de mesures fréquentes nous a permis de suivre la dynamique fournissant de nouvelles informations sur le fonctionnement du couvert : date d'entrée en sénescence ou vitesse de sénescence.

Ce prototype nous a également permis d'identifier certaines limites dans l'acquisition et le traitement des données:

- Le système d'acquisition des mesures (vecteurs et capteurs) doit être complètement automatisé. Il faudra donc développer un vecteur autonome, un robot, qui permette de parcourir automatiquement l'ensemble des micro-parcelles sur une période temporelle qui peut être de plusieurs heures compatible avec la caractérisation de plateformes comportant plus de 1000 micro-parcelles. Il sera alors possible de répéter dans le temps les mesures pour suivre avec un pas de temps assez fin (de l'ordre de 100°C.jour, i.e. environ un phyllochrone) la dynamique de la structure et de la composition biochimique.
- Les mesures doivent être le plus indépendantes possible des conditions extérieures. Il faut donc privilégier un fonctionnement en mode actif pour maîtriser complètement les conditions d'illumination et étendre au maximum la fenêtre temporelle dans laquelle les mesures peuvent être réalisées.
- Il faut privilégier les mesures réalisées à l'échelle de l'organe. En effet les mesures de radiance intégrées à l'échelle du couvert sont difficiles à interpréter car elles sont influencées par de nombreuses variables rendant le problème mal posé. L'interprétation de ces mesures risque donc de conduire à des artefacts dépendant des particularités de chaque cultivar. Les systèmes en développement doivent donc avoir une résolution spatiale de l'ordre du mm² permettant de résoudre les organes les plus fins. Ils pourront avoir un échantillonnage exhaustif (imagerie pour la structure) ou partiel (accès au contenu biochimique).
- La chaîne d'interprétation des mesures devra être la plus automatisée possible en cohérence avec l'exigence haut-débit imposée. Elle devra comporter au minimum deux étapes :
 - o une première interprétation permettant de valider la mesure rapidement. En cas de problème identifié, il sera alors possible d'intervenir rapidement pour le corriger et de relancer une acquisition en évitant ainsi de perdre la finesse de la description de la dynamique.

- Une seconde interprétation, plus poussée qui fournira les variables d'intérêt principales décrivant la structure et le contenu biochimique des feuilles.

Le phénotypage haut débit au champ est en train de devenir une réalité. Une véritable chaîne de production opérationnelle doit être développée pour aller de l'acquisition de la mesure jusqu'à son interprétation en termes de traits structuraux ou fonctionnels. Ainsi un ou/des vecteurs permettant d'embarquer une série de capteurs doivent être définis. L'acquisition automatique des données doit être gérée. Puis la modélisation de ces données « brutes » via une chaîne de traitement doit permettre d'extraire l'information phénotypique d'intérêt. Ces étapes sont représentées Figure 1. On parcourt ainsi différentes disciplines allant de la mécanique, physique et biologie conférant au phénotypage un caractère fortement multidisciplinaire, les aspects informatiques sont présents à toutes les étapes de la chaîne, et doivent être particulièrement bien conçus et intégrés pour traiter de manière efficace les gros volumes de données générés par les dimensions spatiales (imagerie), temporelles, directionnelles, spectrales et multi-capteurs associées au phénotypage. Des modèles doivent être également développés pour passer d'une étape à l'autre, avec des défis particulièrement importants pour les dernières étapes en relation avec le fonctionnement et le développement de la structure des couverts.

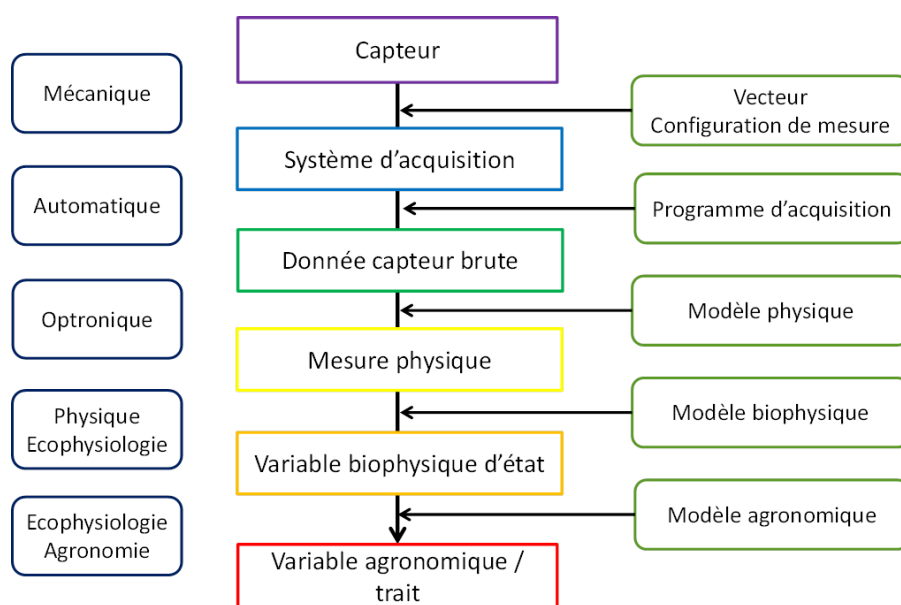


FIGURE 46: LES DIFFERENTES ETAPES NECESSAIRES A LA CHAÎNE DE PRODUCTION DE DONNÉES ISSUES DU PHÉNOTYPAGE HAUT DÉBIT

Le travail présenté dans cette thèse constitue une contribution à la construction générale d'un système de phénotypage. La possibilité d'interpréter les mesures réalisées de manière plus fine les données à l'aide de modèles 3D a été investiguée. L'utilisation de ce type de modèle pour la simulation du transfert radiatif pose le problème de la connaissance des propriétés optiques des éléments du couvert et en particulier du limbe pour son rôle essentiel le dans le fonctionnement de la plante, à la fois déterminant des processus présents et futurs, mais aussi indicateur des stress passés subis. Nous nous sommes focalisé sur l'amélioration de notre compréhension de l'interaction entre la feuille et la lumière, et en particulier des effets directionnels qui avaient été très peu traités jusqu'à présent et qui sont susceptibles de varier de manière significative d'un cultivar à un autre. A l'aide de mesures originales, la très forte spécularité des feuilles de blé a été démontrée. Il a de plus été montré l'influence de son système vasculaire sur la BRDF. A l'aide de modèle utilisant la théorie des micro-facettes, une modélisation satisfaisante de la BRDF a été proposée et validée. Ce modèle devrait pourvoir nous servir à la fois pour améliorer la description complète du transfert radiatif au niveau de la feuille, et pour en étudier les conséquences à l'échelle du couvert. On se propose notamment de répondre aux questions suivantes :

- Les propriétés spéculaires d'une feuille de blé sont désormais bien décrites et modélisées. Ont-elles une incidence sur le signal intégré à l'échelle du couvert ? En d'autres mots, le spéculaire des feuilles se moyenne t'il à l'échelle du couvert ? Cette question, sans doute marginale compte tenu de l'orientation proposée aux systèmes de phénotypage (imagerie active), prend tout son sens pour des applications de l'observation aérienne (drones, avions) ou spatiale (satellite) pour le développement d'outils d'aide à la décision dont l'agriculture de précision en constitue une branche importante.
- La mesure active, souvent acquise dans une configuration proche du hot-spot (directions d'illumination et de visée proches) pose également des questions sur l'effet du hot-spot au niveau de la feuille. Nos mesures ont montré que la BRF dans la direction de rétrodiffusion dépendait de façon significative de la rugosité de la feuille, celle-ci pouvant varier d'un cultivar à l'autre, voire d'un traitement à l'autre sous l'effet de stress, mais aussi en fonction de l'azimut de la feuille compte tenu du caractère orienté de la rugosité des feuilles de blé.

Ce travail de thèse fut également l'occasion d'entamer un certain nombre de voies de recherches, les plus abouties étant présentées dans ce document. Certaines autres voies se sont avérées être des impasses. En particulier l'espoir initial d'utiliser des modèles décrivant la structure 3D du couvert pour interpréter les mesures de réflectance multi-spectrales réalisées à l'échelle du m². En effet, la description réaliste de la structure 3D de couverts de blé, prenant en compte la variabilité liée à la génétique ou à l'environnement, mérite encore des efforts significatifs pour pouvoir être exploitée. Si nous avons levé le verrou associé à la caractérisation des propriétés optiques des feuilles, reste encore celui du calcul du transfert radiatif au niveau du couvert, où les outils existants nécessitent encore des adaptations pour pouvoir rendre compte de manière physiquement réaliste de notre connaissance des processus. Nous ne croyons donc plus dans l'utilisation de mesures radiométriques à l'échelle du m² pour une description détaillée de la structure et des caractéristiques biochimiques des feuilles, en relation avec des modèles de structure 3D pour aider à l'interprétation. En revanche, les mesures de structure détaillées et de composition biochimique qui seront fournies par les différents capteurs mis en œuvre sur de la deuxième génération de système de phénotypage pourront être exploitées pour simuler le signal enregistré par les capteurs embarqués sur les systèmes d'aide à la décision. Les modèles de transfert radiatifs associés devront donc être disponibles pour de telles applications.

Enfin, certaines pistes explorées n'ont pas permis, faute de temps, de déboucher sur des résultats suffisamment consolidés pour être présentés dans ce document, mais devront être approfondis. En particulier :

- L'effet du stress hydrique sur les propriétés directionnelles des feuilles
- La variabilité de la réflectance directionnelle des feuilles en fonction de leur état de surface. Une petite partie des résultats a été présentée, se focalisant sur la variabilité interspécifique très forte. Une interprétation plus fouillée associée à une modélisation doit permettre de revisiter cet aspect.
- La caractérisation et la modélisation (physique ou phénoménologique) de la BRF de surfaces de référence, essentielles pour transformer le signal mesuré au niveau de la feuille ou du couvert en grandeur physique.
- La question de l'accès au contenu en azote au niveau de la feuille ou de l'ensemble des feuilles du couvert : la spectrophotométrie est-elle capable d'estimer de manière robuste le

contenu en azote ? Faudra-t'il passer par l'estimation du contenu en chlorophylle et utiliser d'autres co-variables pour accéder au contenu en azote ?

A terme, le phénotypage haut-débit, par sa capacité à fournir de manière précise et répétées dans le temps et sur de nombreux traitements une description détaillée de la structure et du contenu en principaux absorbants (pigments chlorophylliens, eau, matière sèche) devrait révolutionner le monde de la modélisation des cultures en forçant à intégrer une description structure-fonction prenant en compte la variabilité génétique. En retour, le phénotypage pourra bénéficier de ces avancées, en permettant l'accès à des traits fonctionnels sous forme de paramètres des processus du modèle structure-fonction.

Bibliographie

- Andrieu, B. & Sinoquet, Hervé, 1993. Evaluation of structure description requirements for predicting gap fraction of vegetation canopies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 65(3–4), pp.207–227.
- Ashikmin, M., Premoze, S. & Shirley, P., 2000. A microfacet-based BRDF generator. In *Proceedings of the 27th annual conference on Computer graphics and interactive techniques*. pp. 65–74. Available at: <http://dl.acm.org/citation.cfm?id=344814> [Accessed December 10, 2012].
- Baret, F. et al., 2010. GAI estimates of row crops from downward looking digital photos taken perpendicular to rows at 57.5 degrees zenith angle: Theoretical considerations based on 3D architecture models and application to wheat crops. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(11), pp.1393–1401.
- Baret, F. & Fourty, T., 1997. Estimation of leaf water content and specific leaf weight from reflectance and transmittance measurements. *Agronomie*, 17(9-10), pp.455–464.
- Baret, F. & Guyot, G., 1991. Potentials and limits of vegetation indices for LAI and APAR assessment. *Remote sensing of environment*, 35(2), pp.161–173.
- Baret, F., Houlès, V. & Guérif, M., 2007. Quantification of plant stress using remote sensing observations and crop models: the case of nitrogen management. *Journal of Experimental Botany*, 58(4), pp.869–880.
- Beckmann, P., 1965. Shadowing of random rough surfaces. *Antennas and Propagation, IEEE Transactions on*, 13(3), pp.384–388.
- Biliouris, D. et al., 2007. A compact laboratory spectro-goniometer (CLabSpeG) to assess the BRDF of materials. Presentation, calibration and implementation on *Fagus sylvatica* L. leaves. *Sensors*, 7(9), pp.1846–1870.
- Bisault, L., 2008. Les rendements du blé et du maïs ne progressent plus. *Agreste: la statistique agricole*. Available at: <http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/primeur210.pdf> [Accessed March 14, 2013].
- Blinn, J.F., 1977. Models of light reflection for computer synthesized pictures. In *ACM SIGGRAPH Computer Graphics*. pp. 192–198. Available at: <http://dl.acm.org/citation.cfm?id=563893> [Accessed September 3, 2012].
- Bousquet, L. et al., 2005. Leaf BRDF measurements and model for specular and diffuse components differentiation. *Remote Sensing of Environment*, 98(2-3), pp.201–211.
- Bousquet, L.A., 2007. *Mesure et modélisation des propriétés optiques spectrales et directionnelles des feuilles*.
- Brakke, T., Smith, J. & Harnden, J., 1989. Bidirectional scattering of light from tree leaves. *Remote Sensing of Environment*, 29(2), pp.175–183.
- Breece Iii, H.T. & Holmes, R.A., 1971. Bidirectional scattering characteristics of healthy green soybean and corn leaves in vivo. *Applied optics*, 10(1).
- Brisson, N. et al., 2010. Why are wheat yields stagnating in Europe? A comprehensive data analysis for France. *Field Crops Research*, 119(1), pp.201–212.

- Bussemeyer, L. et al., 2013. BreedVision — A Multi-Sensor Platform for Non-Destructive Field-Based Phenotyping in Plant Breeding. *Sensors*, 13(3), pp.2830–2847.
- Chelle, M., 2006. Could plant leaves be treated as Lambertian surfaces in dense crop canopies to estimate light absorption? *Ecological Modelling*, 198(1-2), pp.219–228.
- Comar, A. et al., 2012. Wheat leaf bidirectional reflectance measurements: Description and quantification of the volume, specular and hot-spot scattering features. *Remote Sensing of Environment*, 121, pp.26–35.
- Combes, D. et al., 2007. A new spectrogoniophotometer to measure leaf spectral and directional optical properties RID F-8842-2010. *Remote Sensing of Environment*, 109(1), pp.107–117.
- Cook, R.L. & Torrance, K. E, 1981. A reflectance model for computer graphics. In *ACM SIGGRAPH Computer Graphics*. pp. 307–316.
- Curran, Paul J, 1989. Remote sensing of foliar chemistry. *Remote Sensing of Environment*, 30(3), pp.271–278.
- Dash, J. & Curran, P. J., 2004. The MERIS terrestrial chlorophyll index. *International Journal of Remote Sensing*, 25(23), pp.5403–5413.
- Dawson, T.P., Curran, Paul J. & Plummer, S.E., 1998. LIBERTY—Modeling the Effects of Leaf Biochemical Concentration on Reflectance Spectra. *Remote Sensing of Environment*, 65(1), pp.50–60.
- Dumas, J., 1831. Procédés de l'analyse organique. *Ann. Chim. Phys. (Paris)*, (47), pp.198–213.
- Ecarnot, M., Compan, F. & Roumet, P., 2013. Assessing leaf nitrogen content and leaf mass per unit area of wheat in the field throughout plant cycle with a portable spectrometer. *Field Crops Research*, 140(0), pp.44–50.
- Ben-Ezra, M. et al., 2008. An LED-only BRDF measurement device. In *Computer Vision and Pattern Recognition, 2008. CVPR 2008. IEEE Conference on*. pp. 1–8. Available at: http://ieeexplore.ieee.org/xpls/abs_all.jsp?arnumber=4587766 [Accessed January 16, 2013].
- Feret, J.-B. et al., 2008. PROSPECT-4 and 5: Advances in the leaf optical properties model separating photosynthetic pigments. *Remote Sensing of Environment*, 112(6), pp.3030–3043.
- Fiorani, F. et al., 2012. Imaging plants dynamics in heterogenic environments. *Current Opinion in Biotechnology*. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166911007531> [Accessed December 6, 2012].
- Fourty, Th. et al., 1996. Leaf optical properties with explicit description of its biochemical composition: Direct and inverse problems. *Remote Sensing of Environment*, 56(2), pp.104–117.
- Fritsch, F.B. & Ray, J.D., 2007. Soybean leaf nitrogen, chlorophyll content, and chlorophyll a/b ratio. *Photosynthetica*, 45(1), pp.92–98.
- Furbank, R.T. & Tester, M., 2011. Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science*, 16(12), pp.635–644.

- Gallo, K., Daughtry, C. & Wiegand, C., 1993. Errors in Measuring Absorbed Radiation and Computing Crop Radiation Use Efficiency. *Agronomy Journal*, 85(6), pp.1222–1228.
- Gallo, K.P. & Daughtry, C.S.T., 1986. Techniques for measuring intercepted and absorbed photosynthetically active radiation in corn canopies. *Agronomy journal*, 78(4), pp.752–756.
- Gamon, J.A., Serrano, L. & Surfus, J.S., 1997. The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels. *Oecologia*, 112(4), pp.492–501.
- Ganapol, B.D. et al., 1998. LEAFMOD: A New Within-Leaf Radiative Transfer Model. *Remote Sensing of Environment*, 63(2), pp.182–193.
- Gitelson, A. A., Gritz, Y. & Merzlyak, M.N., 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160(3), pp.271–282.
- Gitelson, A. A., Keydan, G.P. & Merzlyak, M.N., 2006. Three-band model for noninvasive estimation of chlorophyll, carotenoids, and anthocyanin contents in higher plant leaves. *Geophysical Research Letters*, 33(11).
- Haboudane, D. et al., 2004. Hyperspectral vegetation indices and novel algorithms for predicting green LAI of crop canopies: Modeling and validation in the context of precision agriculture. *Remote Sensing of Environment*, 90(3), pp.337–352.
- Haboudane, D. et al., 2002. Integrated narrow-band vegetation indices for prediction of crop chlorophyll content for application to precision agriculture. *Remote Sensing of Environment*, 81(2–3), pp.416–426.
- He, X.D. et al., 1991. A comprehensive physical model for light reflection. In *ACM SIGGRAPH Computer Graphics*. pp. 175–186.
- Herbert, T.J., 1993. Leaf inclination of *Dryas octopetala* L. and its dependence upon latitude. *Polar Biology*, 13(2), pp.141–143.
- Höpe, A. & Hauer, K.O., 2010. Three-dimensional appearance characterization of diffuse standard reflection materials. *Metrologia*, 47, p.295.
- Hsia, J.J. & Weidner, V.R., 1981. NBS 45/normal reflectometer for absolute reflectance factors. *Metrologia*, 17, p.97.
- Hunt, E.R. & Rock, B.N., 1989. Detection of changes in leaf water content using near-and middle-infrared reflectances. *Remote sensing of environment*, 30(1), pp.43–54.
- Jacquemoud, S. et al., 2000. Comparison of four radiative transfer models to simulate plant canopies reflectance: Direct and inverse mode. *Remote Sensing of Environment*, 74(3), pp.471–481.
- Jacquemoud, S. et al., 1996. Estimating leaf biochemistry using the PROSPECT leaf optical properties model. *Remote Sensing of Environment*, 56(3), pp.194–202.
- Jacquemoud, S., 1993. Inversion of the Prospect + Sail Canopy Reflectance Model from Aviris Equivalent Spectra - Theoretical-Study. *Remote Sensing of Environment*, 44(2-3), pp.281–292.

- Jacquemoud, S. & Baret, F., 1990. Prospect - a Model of Leaf Optical-Properties Spectra. *Remote Sensing of Environment*, 34(2), pp.75–91.
- Jacquemoud, Stephane et al., 2009. PROSPECT plus SAIL models: A review of use for vegetation characterization. *Remote Sensing of Environment*, 113, pp.S56–S66.
- Knyazikhin, Yuri et al., 2012. Hyperspectral remote sensing of foliar nitrogen content. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Available at: <http://www.pnas.org/content/early/2012/12/03/1210196109> [Accessed January 16, 2013].
- Kokaly, R.F., 2001. Investigating a Physical Basis for Spectroscopic Estimates of Leaf Nitrogen Concentration. *Remote Sensing of Environment*, 75(2), pp.153–161.
- Lange, A.F., 1996. Centimeter Accuracy Differential GPS for Precision Agriculture Applications. *Precision Agriculture*, accesspublicati(precisionagricu3), pp.675–680.
- Lawlor, D.W., 2002. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of experimental Botany*, 53(370), pp.773–787.
- Leuning, R., Dunin, F.X. & Wang, Y.-P., 1998. A two-leaf model for canopy conductance, photosynthesis and partitioning of available energy. II. Comparison with measurements. *Agricultural and Forest Meteorology*, 91(1–2), pp.113–125.
- Li, H. & Torrance, K. E., 2005. An experimental study of the correlation between surface roughness and light scattering for rough metallic surfaces. In *Proc. SPIE*. pp. 249–263. Available at: <http://www.graphics.cornell.edu/pubs/2005/LT05b.pdf> [Accessed November 22, 2012].
- Li, Hongsong & Torrance, Kenneth E., 2005. A practical comprehensive light reflection model. *Computer*, pp.1–12.
- Marschner, S.R. et al., 2000. Image-based bidirectional reflectance distribution function measurement. *Applied Optics*, 39(16), pp.2592–2600.
- Montes, J.M., Melchinger, A.E. & Reif, J.C., 2007. Novel throughput phenotyping platforms in plant genetic studies. *Trends in plant science*, 12(10), pp.433–436.
- Munns, R. et al., 2010. New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit. *Journal of Experimental Botany*, 61(13), pp.3499–3507.
- Nayar, S. K., Ikeuchi, K. & Kanade, T., 1991. Surface reflection: physical and geometrical perspectives. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 13(7), pp.611–634.
- Nicodemus, F.E., 1977. *Geometrical considerations and nomenclature for reflectance*, US Dept. of Commerce, National Bureau of Standards: for sale by the Supt. of Docs., US Govt. Print. Off.
- Nilson, T., 1971. A theoretical analysis of the frequency of gaps in plant stands. *Agricultural Meteorology*, 8, pp.25–38.
- Obein, G., Bousquet, R. & Nadal, M.E., 2005. New NIST reference goniospectrometer. *Proceedings of SPIE*, 5880(1), p.58800T–58800T–10.

- Ollinger, S.V. et al., 2008. Canopy nitrogen, carbon assimilation, and albedo in temperate and boreal forests: Functional relations and potential climate feedbacks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49), pp.19336–19341.
- Oren, M. & Nayar, Shree K., 1994. Generalization of Lambert's reflectance model. In *Proceedings of the 21st annual conference on Computer graphics and interactive techniques*. pp. 239–246. Available at: <http://dl.acm.org/citation.cfm?id=192213> [Accessed April 3, 2013].
- Papetti, T.J. et al., 2007. Coherent backscatter: measurement of the retroreflective BRDF peak exhibited by several surfaces relevant to lidar applications. *Proc. SPIE6682 E*, 66820, p.66820E–13.
- Poulin, P. & Fournier, A., 1990. A model for anisotropic reflection. In *ACM SIGGRAPH Computer Graphics*. pp. 273–282. Available at: <http://dl.acm.org/citation.cfm?id=97909> [Accessed April 5, 2013].
- RENSE, W.A., 1950. Polarization Studies of Light Diffusely Reflected from Ground and Etched Glass Surfaces. *Journal of the Optical Society of America*, 40(1), pp.55–56.
- Richardson, Andrew D., Duigan, S.P. & Berlyn, G.P., 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*, 153(1), pp.185–194.
- Rouse, J.W., 1974. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. In *NASA. Goddard Space Flight Center 3rd ERTS-1 Symp.*. Available at: <http://www.csa.com/partners/viewrecord.php?requester=gs&collection=TRD&recid=N7430727AH> [Accessed March 12, 2013].
- Sarto, A.W., Woldemar, C.M. & Vanderbilt, V.C., 1990. Polarized Light Angle Reflectance Instrument I Polarized Incidence (POLAR:I). In C. J. Hailey & O. H. W. Siegmund, eds. pp. 220–230. Available at: http://spie.org/x648.html?product_id=962893 [Accessed October 18, 2012].
- Schaepman-Strub, G. et al., 2006. Reflectance quantities in optical remote sensing-definitions and case studies. *Remote Sensing of Environment*, 103(1), pp.27–42.
- Schlick, C., 1994. An Inexpensive BRDF Model for Physically-based Rendering. In *Computer graphics forum*. pp. 233–246.
- Seelig, H.-D. et al., 2008. Relations of remote sensing leaf water indices to leaf water thickness in cowpea, bean, and sugarbeet plants. *Remote Sensing of Environment*, 112(2), pp.445–455.
- Simonot, L., 2009. Photometric model of diffuse surfaces described as a distribution of interfaced Lambertian facets. *Applied optics*, 48(30), pp.5793–5801.
- Smith, B., 1967. Geometrical shadowing of a random rough surface. *Antennas and Propagation, IEEE Transactions on*, 15(5), pp.668–671.
- Stokes, G.G., 1860. On the intensity of the light reflected from or transmitted through a pile of plates. *Proceedings of the Royal Society of London*, 11, pp.545–556.
- Stuckens, J. et al., 2009. The impact of common assumptions on canopy radiative transfer simulations: A case study in Citrus orchards. *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*, 110(1-2), pp.1–21.

- Stuckens, Jan et al., 2009. A dorsiventral leaf radiative transfer model: Development, validation and improved model inversion techniques. *Remote Sensing of Environment*, 113(12), pp.2560–2573.
- Thomson, B.D. et al., 1997. Grain legume species in low rainfall Mediterranean-type environments I. Phenology and seed yield. *Field Crops Research*, 54(2), pp.173–187.
- Torrance, K. E & Sparrow, E.M., 1967. Theory for off-specular reflection from roughened surfaces. *Journal of the Optical society of America*, 57(9), pp.1105–1114.
- Vanderbilt, V.C. & Grant, L., 1986. Polarization photometer to measure bidirectional reflectance factor R (55, 0; 55, 180) of leaves. *Optical Engineering*, 25(4), pp.254566–254566.
- Verhoef, W., 1985. Earth Observation Modeling Based on Layer Scattering Matrices. *Remote Sensing of Environment*, 17(2), pp.165–178.
- Verhoef, W., 1984. Light-Scattering by Leaf Layers with Application to Canopy Reflectance Modeling - the Sail Model. *Remote Sensing of Environment*, 16(2), pp.125–141.
- Verney-Carron, A., 2002. Etalonnage de la sphère intégrante externe LI 1800 12 en transmittance.
- Vigneau, N. et al., 2011. Potential of field hyperspectral imaging as a non destructive method to assess leaf nitrogen content in Wheat. *Field Crops Research*, 122(1), pp.25–31.
- Walter, A., Studer, B. & Kölliker, R., 2012. Advanced phenotyping offers opportunities for improved breeding of forage and turf species. *Annals of Botany*. Available at: <http://aob.oxfordjournals.org/content/early/2012/02/22/aob.mcs026> [Accessed December 7, 2012].
- Walter, B. et al., 2007. Microfacet models for refraction through rough surfaces. In *Eurographics Symposium on Rendering*. p. 5. Available at: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.69.983&rep=rep1&type=pdf> [Accessed December 7, 2012].
- Walter, B., 2005. Notes on the Ward BRDF. *Program of Computer Graphics, Cornell University, Technical report PCG-05-06*.
- Ward, G.J., 1992. Measuring and Modeling Anisotropic Reflection. *Computer Fraphics*.
- Watson, J.D. & Crick, F.H.C., 1953. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. , *Published online: 25 April 1953; | doi:10.1038/171737a0*, 171(4356), pp.737–738.
- Weidner, V.R. & Hsia, J.J., 1981. Reflection properties of pressed polytetrafluoroethylene powder. *JOSA*, 71(7), pp.856–861.
- Weiss, M. et al., 2000. Investigation of a model inversion technique to estimate canopy biophysical variables from spectral and directional reflectance data. *Agronomie*, 20(1), pp.3–22.
- Weiss, M. et al., 2004. Review of methods for in situ leaf area index (LAI) determination: Part II. Estimation of LAI, errors and sampling. *Agricultural and forest meteorology*, 121(1), pp.37–53.

- White, J.W. et al., 2012. Field-based phenomics for plant genetics research. *Field Crops Research*, 133, pp.101–112.
- Woolley, J.T., 1971. Reflectance and transmittance of light by leaves. *Plant physiology*, 47(5).
- Zhang, N., Wang, M. & Wang, N., 2002. Precision agriculture—a worldwide overview. *Computers and Electronics in Agriculture*, 36(2–3), pp.113–132.
- Zhao, D. et al., 2012. Development of Leaf Spectral Models for Evaluating Large Numbers of Sugarcane Genotypes. *Crop Science*, 52(4), pp.1837–1847.

5. Annexes

Je propose en annexe les 4 publications qui constituent mon travail doctoral. Parmi ces publications, deux sont publiées et les deux autres seront soumises avant la soutenance.

Les articles sont proposés dans le même ordre d'apparition, afin de suivre le même cheminement logique que dans le manuscrit :

- Comar A., Baret F., de Solan B., Bioche A., Burger P. (submitted) *"Using the PROSPECT model to retrieve leaf traits from leaf reflectance measurements in wheat phenotyping experiment"*, Plant Methods .
- Comar A., Burger P., de Solan B, Baret F, Daumard F., Hanocq JF. (2012) *"A semi-automatic system for high throughput phenotyping wheat cultivars in-field conditions description and first results"* Functional Plant Biology 39(11) 914-924 <http://dx.doi.org/10.1071/FP12065>
- Comar A, Baret F., Viénot F., Yan L. de Solan B. (2012) « *Wheat leaf bidirectional reflectance measurements: description and quantification of the volume, specular and hot-spot scattering features* » Remote sensing of environment 121:26-35.
- Comar A, Baret F, Simonot L, Vienot F, Obein G, Menevaux D, de Solan B (submitted). *"A leaf BRDF model taking into account the azimuthal anisotropy of monocotyledonous leaf surface"*. Remote sensing of Environment.

Title: Using the PROSPECT model to retrieve leaf traits from leaf reflectance measurements in wheat phenotyping experiments

Plant methods – *

Alexis Comar, Frederic Baret, Benoit de Solan, Anaïs Bioche, Philippe Burger

(Le niveau 1 des titres correspond aux “authors requirements” et ne peuvent être changé !)

1 Abstract

1.1 Background

Hyperspectral spectra of leaf can be easily obtain in relatively fast fashion and is therefore an interesting measurement for phenotyping application. We propose in this paper to evaluate the opportunity of using Prospect a physically based model of leaf

1.2 Results and discussion

1.3 Conclusion

15 **2 Keywords**

16 Chlorophyll, leaf, wheat, phenotyping, water content, dry matter content, specific leaf weight

17

3 Background

High throughput phenotyping is a rapidly growing research field that was enabled by the continuous technical advances for sensors, robotics and computer systems for data processing. Very recent reviews [1, 2] summarize plant phenotyping issues and the current techniques used to address them. Plant phenotyping focuses on a series of non-destructive and high-throughput measurements focusing on canopy structure (aerial parts and root system), leaf biochemical composition and stress indices. The non-destructive and high-throughput character of the measurements allows repeating them along the growing season and access some indicators of the plant functioning that could be used ultimately as functional traits. The characterization of leaf biochemical composition provides very valuable information on its state with regards to a number of key processes. Amongst leaf constituents, chlorophyll and carotenoid, water and dry matter show strong and specific absorption features that can be used to estimate their content from the measurement of their optical properties. The quantity that is directly and physically linked to the light measurements is the area content, i.e. mass of constituent per unit leaf area. The chlorophyll and carotenoid pigments drive the photosynthesis and are also very sensitive indicators of the nitrogen balance of the plant. Water content may be related to the water stress level experienced by the plant, and is generally very strongly linked to the dry matter content for the green photosynthetically active leaves: as a matter of fact, active leaves keep the relative water content within relatively narrow margins compatible with biochemical processes (Vile et al. 2005). Finally, dry matter content corresponds to the leaf mass per area (LMA) that is obviously a key driver in the efficiency of developing interception surfaces from the available assimilates and is also known to be related to photosynthesis processes (Ellsworth 1993).

Methods have been proposed since the 80s to estimate leaf chlorophyll and carotenoid content from optical measurements [4–6]. These techniques became very popular with the rise of precision agriculture with focus on nitrogen applications (Gitelson et al. 2003; Cerovic et al. 2012). Several studies have reported empirical relationships between leaf water content and leaf optical properties in relation to the stress status of plants and differences between species (Hunt 1989, Penuelas, 1993) or based on leaf optical properties modeling (Ceccato et al. 2001). Less studies report attempts to estimate dry matter content from reflectance measurements except Wang et al. 2011, Lymburner et al. 2000 as well as Baret et al. 1997.

This brief review of studies focusing on the estimation of chlorophyll, carotenoid, water and dry matter content shows that they are based either on empirical relationships or on the use of physical models that describe the interaction of light with the leaf. These studies are generally reporting

results obtained over a wide range of variation due either to interspecific differences or to drastic environmental conditions such as saline or illumination levels. Some are also targeting chlorophyll content within precision agriculture applications using chlorophyll as a proxy of nitrogen. However the paradigm of precision agriculture, i.e. spatial variability within one cultivar and one field, is different from that of phenotyping where differences between cultivars are evaluated under various environmental conditions. Therefore, differences in leaf mesophyll structure, the distribution of absorbers in the leaf volume and surface features may alter the relationships between leaf optical properties and chlorophyll content. The use of a physically based leaf optical properties model appears as an elegant way to account for possible confounding effects in the estimation of leaf main constituents: chlorophyll, water and dry matter.

A review on leaf optical properties modeling was recently proposed [12] that describes the several approaches used: radiative transfer based (Jacquemoud et Baret, 1990; Fushanski et al. 1993, dawson, 1998, Ganapol et al. 1998), stochastic processes (Tucker and Garatt, 1977; Maier et al. 1999) or ray tracing (Baranoski and Rokne, 1997, Ustin et al. 2001). The PROSPECT model was one of the most widely used (Jacquemoud and Baret, 1990, Fourty et al. 1996; Feret et al. 2008; Jacquemoud et al. 2009). The PROSPECT model was already exploited to retrieve leaf biochemical composition from reflectance or transmittance measurements (Baret and Fourty, 1997; Le Maire et al. 2004; Feret et al. 2008; Stuckens et al. 2009).

The objective of this study is to evaluate the capacity of the PROSPECT model to estimate chlorophyll, carotenoid, water and dry matter content per unit leaf area from leaf reflectance measurements in the framework of phenotyping experiments. In these conditions, small variations of the contents are expected between cultivars while correlated changes in the mesophyll structure or surface features may confound the interpretation of the measured reflectance values. Further, getting physical quantities corresponding to the areal contents of chlorophyll, carotenoid, water and dry matter is preferred to bulk indicators for which the interpretation into functional traits will be more difficult. The study is based on an experiment conducted over six wheat cultivars grown under contrasted nitrogen levels and sowing density. Leaves were sampled at flowering and during grain filling when senescence started for a significant fraction of leaves. Leaf reflectance spectra in the 450-2500 nm spectral domain were acquired concurrently to destructive measurements of chlorophyll, water and dry matter. The contents estimated using the PROSPECT model will be compared to the reference destructive measurements with due attention to the accuracy of the estimates as well the capacity to identify differences between cultivars.

4 Results and discussion

4.1 Relationship between the biochemical contents

It is mandatory to first evaluate the possible correlations between chlorophyll (Cab), carotenoid (Cc), water (Cw) and dry matter (Cm) contents. As a matter of fact, estimates of the content of one constituent would not bring any additional information if it was strongly correlated to the content of another constituent. The correlations between the several constituents were computed over the destructive measurements considered as the reference.

Results show that dry matter contents are independent from the contents of the other constituents (Figure 1). Chlorophyll and in a weaker way carotenoid contents are significantly correlated to water content. This results from leaves that started to senesce, i.e. when a concomitant loss of water, chlorophyll and carotenoid pigments is experienced. The correlation would be much weaker if the data base was restricted to non-senescent leaves. The strongest correlation is observed under our experimental conditions between chlorophyll and carotenoid pigments: $Cab = ? Cc$ (Figure 1). This relationship was already evidenced by Gitelson et al. (2002) who found however some offset indicating about $5 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ carotenoid content when all the chlorophyll disappeared. This is also in line with observations by Jacquemoud and Baret (1990). It would have been possible to estimate chlorophyll and carotenoid contents from the PROSPECT_5 (Feret et al. 2008) model inversion since the specific absorption coefficients of chlorophyll and carotenoids show distinct patterns. However, for the separation between cultivars this will provide no useful information as already discussed. Therefore the study will focus on the content of chlorophyllian pigments, $Cabc$, which is the sum of carotenoids and chlorophyll contents: $Cabc = Cab + Cc$. Note that Feret et al. (2008) provides a specific absorption coefficient of the chlorophyllian pigments corresponding to PROSPECT_4. As a consequence, this study will mainly use PROSPECT_4 model (Feret et al. 2008) as well as PROSPECT_3 (Fourty et al. 1997) where only chlorophyllian pigments are accounted for.

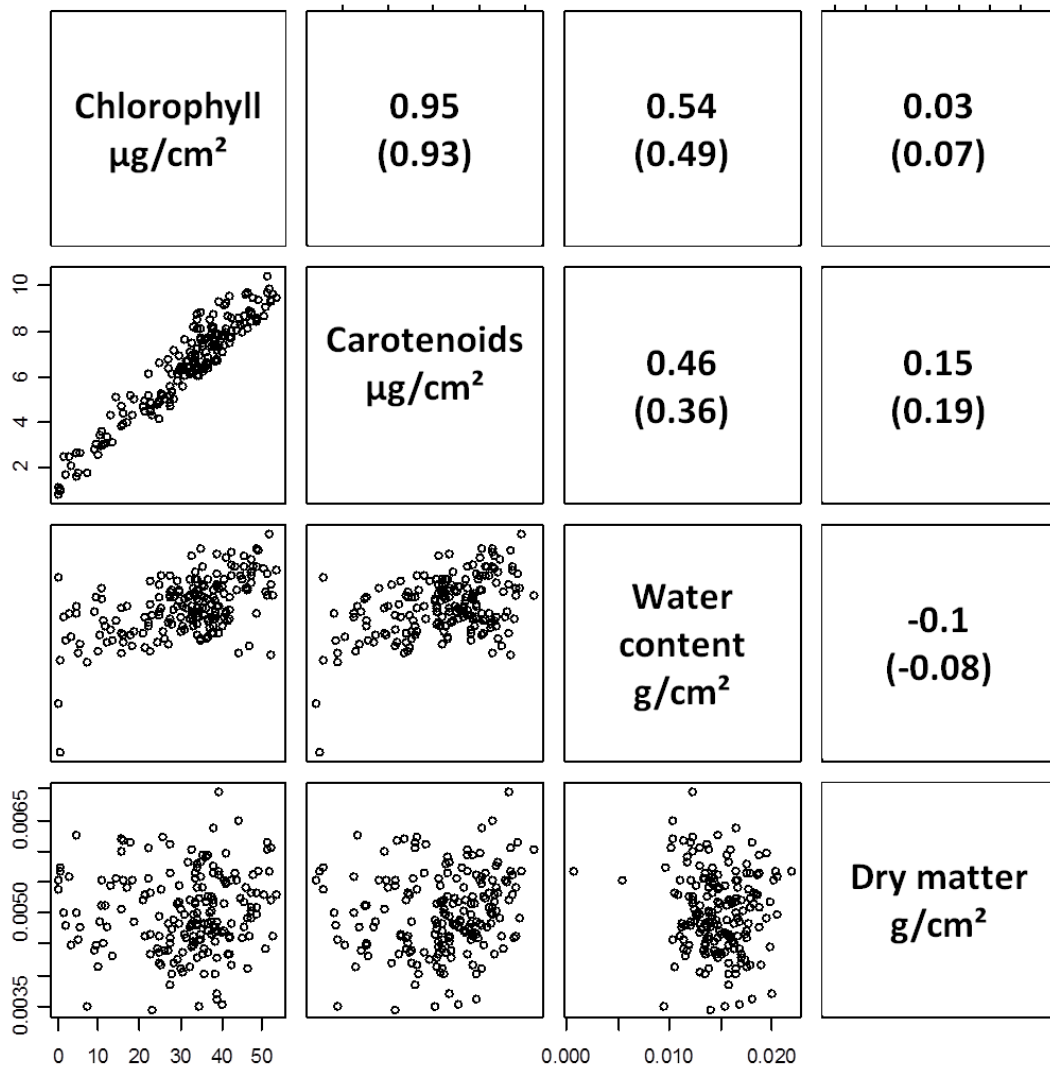


Figure 1: Relationship between the 4 destructive variables measured. Scatterplot is proposed at the bottom right triangular matrix. On the top left triangular matrix, the corresponding Pearson and Spearman (under-bracket coefficient) are computed using the R package [17].

4.2 Accuracy of chlorophyllian pigment, water and dry matter content estimates from PROSPECT model inversion

The reflectance measurements made over a leaf with a white background were used to estimate the contents in biochemical constituents by adjusting the input variables of the PROSPECT model adapted to the observational conditions (see section on methods), i.e. contents of the constituents, surface reflectivity and fraction covered by the leaf. The particular observational configuration was selected to enhance the sensitivity to leaf biochemical composition according to Stuckens et al. (2009). Two versions of the PROSPECT model were compared: PROSPECT_3 with the original specific absorption coefficients for chlorophyllian pigments, water dry matter and the brown pigments (polyphenols appearing during the senescence of leaves) as well as the original refraction index

(Jacquemoud and Baret, 1990; Fourty et al., 1996). PROSPECT_4 proposed by Feret et al. (2008) where the refraction index and the specific absorption coefficient of chlorophyllian pigments, water and dry matter were recalibrated over an extended data set, but where no brown pigments were included. More details on the PROSPECT models used and their adaptation to the observational configuration can be found in the methods section.

The inversion of the PROSPECT model was based on an iterative minimization of a cost function describing the distance between the measured and simulated reflectance values. Performances of the inversion were evaluated both over the accuracy of the simulated reflectance spectra as well as on the estimated biochemical composition. More details on the inversion process are available in the methods section). Table 1 gives a first outlook of Prospect inversion performances.

Tableau 1: Performances of the inversion process over the 186 leaves sampled. Performances are quantified by the RMSE value computed between the measured and the simulated (reflectance) or estimated (contents) data. The 'linear regression' corresponds to RMSE value after correction possible systematic deviations using a linear model characterized by the slope as observed in Figure 3).

Variables	RMSE	PROSPECT_3			PROSPECT_4		
		April n=	June n=	Total N=386	April n=	June n=	Total n=386
Reflectance	Minimum	0.009			0.010		
	Median	0.013			0.013		
	Maximum	0.103			0.091		
C_{abc} ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Raw	25.4			18.7		
	Linear regression	6.4			7.5		
	(slope)	(?)			(?)		
C_w ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Raw	0.0024			0.0014		
	Linear regression	0.0016			0.0009		
	(slope)	(?)			(?)		
C_{dm} ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Raw	0.0031			0.0021		
	Linear regression	0.0006			0.0006		
	(slope)	(?)			(?)		

Performances of PROSPECT model to simulate closely the measured spectral variation of reflectance are generally good, with RMSE values close to 0.01 (Table 1 and Figure 2). The better performances

observed over PROSPECT_3 are mainly explained by its capacity to account for the senescence in leaves by adjusting the content in brown pigments (Figure 2, panel B).

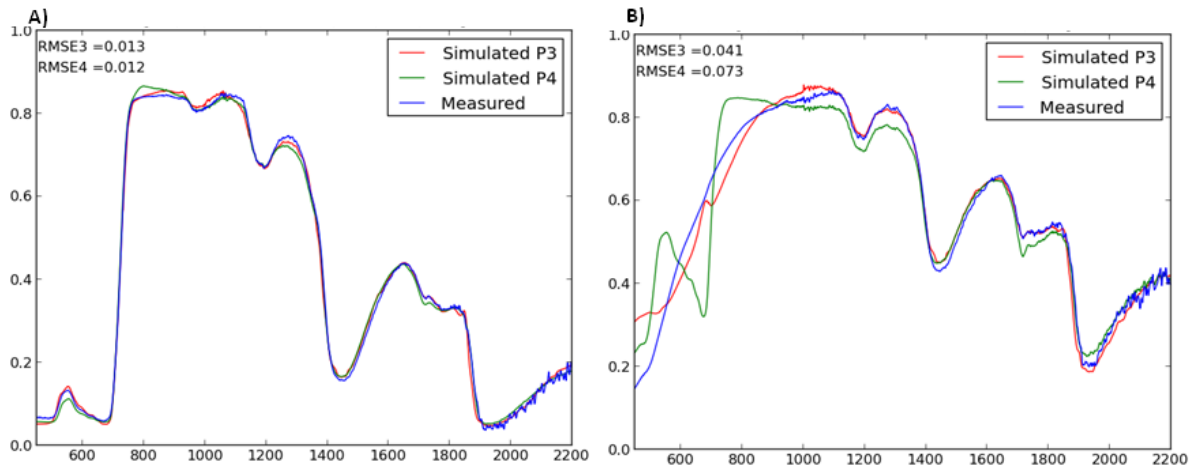
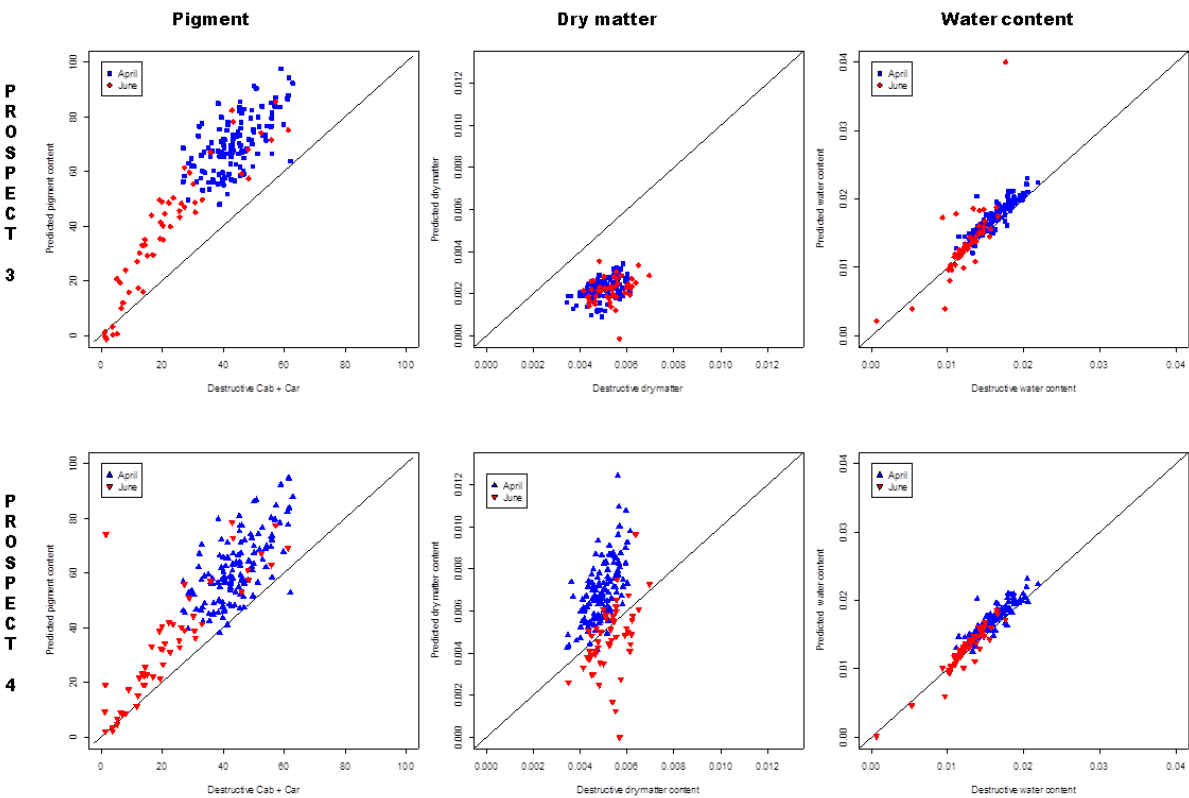


Figure 2: Measured and PROSPECT_3 and PROSPECT_4 simulated reflectance spectra of wheat leaves over a white background. Panel A corresponds to a measurement during flowering. Panel B corresponds to a measurement during grain filling when leaf senescence was observed.

Estimates of chlorophyllian pigments are strongly correlated to the destructive measurements. A clear separation is observed between the April measurements corresponding to the greener leaves with more chlorophyllian pigments than the June measurements with low values. Chlorophyllian pigment contents appear however to be systematically overestimated by both PROSPECT versions (Table 1 and Figure 3). This may be due to the fact that the model has been calibrated over a large range of species, including a large fraction of dicotyledonous leaves showing a well-developed spongy mesophyll that increases the average optical path as compared to wheat leaves showing only a palissadic parenchyma where chloroplasts are concentrated (Jacquemoud et al., 2008). Further, PROSPECT_3 shows a larger slope (slope=1.5?) as compared to PROSPECT_4 (slope=1.3?). This is a consequence of the smaller values of the specific absorption coefficient of chlorophyllian pigments for PROSPECT_3 as compared to those of PROSPECT_4 (Figure 4). However, after correction of this systematic overestimation using a linear correction (Figure 3, dashed line), the residual RMSE values are close to 6-7 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, part of the scattering being attributed to uncertainties in the destructive measurements of chlorophyllian pigments used as the reference. The slightly better performances observed for PROSPECT_3 are explained by the few leaves with significant senescence poorly represented by PROSPECT_4 because of the lack of brown pigments as explained earlier. Tests have been conducted to verify that the overestimation was not depending on the cultivar. Since this is actually the case (results not shown for the sake of brevity), estimates of chlorophyllian pigments using the PROSPECT model could be used for identifying differences between cultivars based either

164 on the raw estimates or after correcting for the overestimation. This will be further investigated in
165 the next section.



166
167 *Figure 3: Comparison between the measured and estimated contents in Chlorophyllian pigments, Dry*
168 *matter and Water. The solid line corresponds to the 1:1 line. The dashed line to the best linear fit*
169 *with no offset. Red and blue points correspond to measurements achieved respectively during*
170 *flowering (April) and grin filling (June) stages.*

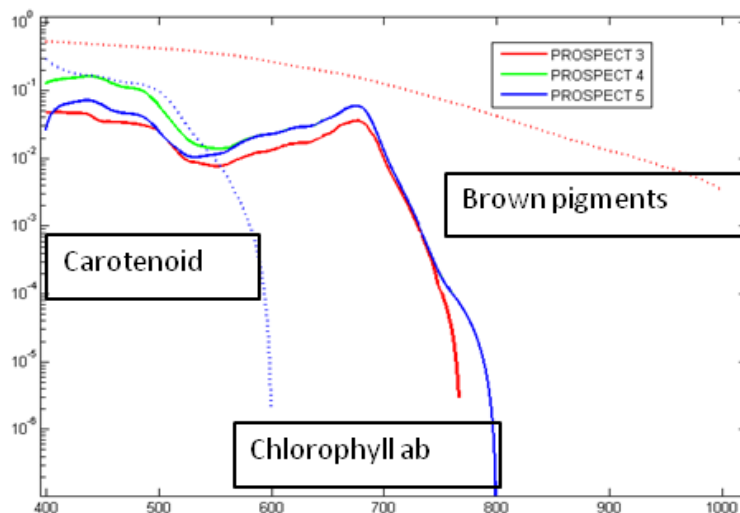


Figure 4: Comparison between the specific absorption coefficients used in the several versions of the PROSPECT model.

Estimates of water content appear to be very accurate, with almost no bias for both versions of PROSPECT model (Figure 3). Leaves sampled in April have larger C_w as leaves sampled in June as a consequence of senescence processes. The better retrieval performances for water as compared to chlorophyllian pigments may be explained by the fact that water is much evenly distributed in the leaf volume as compared to chlorophyllian pigments when considering all the species, including mono and dicotyledonous plants. The validity of the PROSPECT model assumption are thus better verified for water as compared to chlorophyllian pigments.

Estimates of dry matter appear to be much more difficult (Figure 3, Table 1). PROSPECT_3 shows a systematic underestimation but with a distribution of values close to that observed for the destructive measurements. Conversely, estimates from PROSPECT_4 shows a much wider range of variation, with a clear distinction between the April and June measurements not observed over the destructive measurements (Figure 3). This may correspond to artifacts due to compensations between variables in the inversion process. More detailed inspection shows that compensations are observed especially for PROSPECT_4 between chlorophyllian pigments and water contents as well as the structure index (Figure 5).

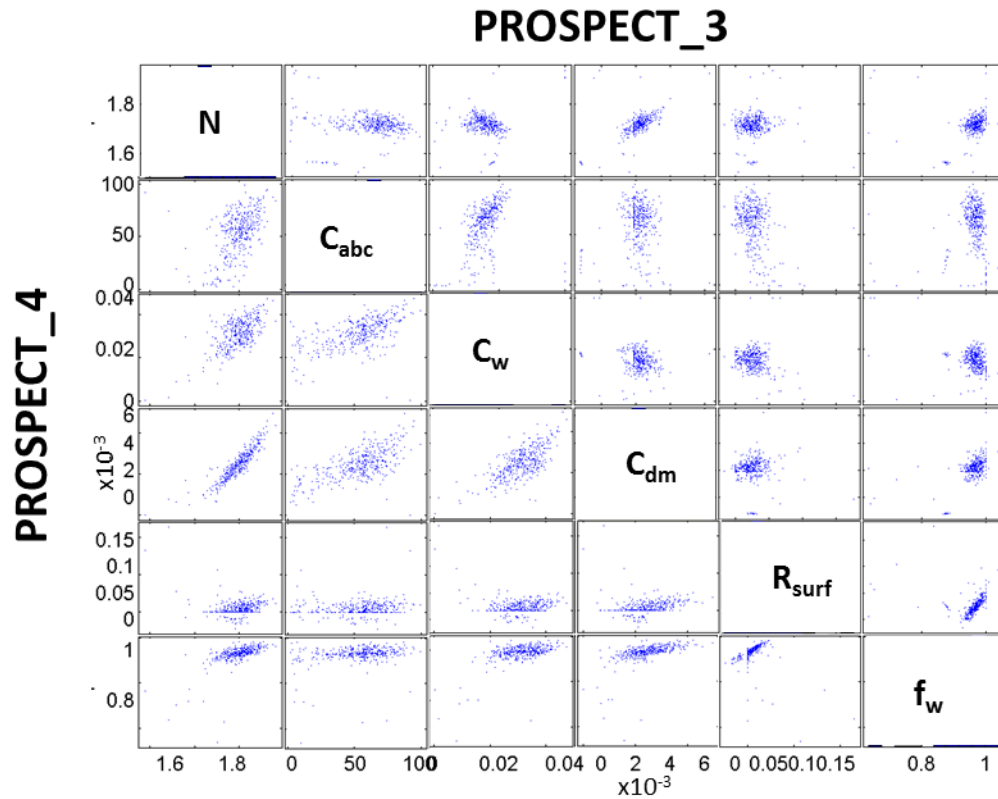


Figure 5. Relationship between estimates of the PROSPECT variables for PROSPECT_3 (upper right diagonal matrix) and PROSPECT_4 (lower left diagonal matrix).

4.3 Separability between cultivars

The separability between cultivars is one of the highly desired properties expected from phenotyping measurements. The separability was first evaluated using a variance analysis. Results (Table 2) show that the probability (p value) for getting a cultivar effect is much lower in the case of the estimated chlorophyllian pigment content by PROSPECT models as compared to the destructive measurements. Similar results are observed for the leaf water content. However Regarding dry matter content, PROPSECT_4 gets a very low probability for accepting the null hypothesis (H0: all the cultivars have the same dry matter contents) similarly to the destructive measurements although in a lesser way. Conversely, PROSPECT_3 shows that the null hypothesis could be accepted in 50% of the cases only, (Table 2). These results confirm that the use the PROSPECT model allows identifying cultivar effects with a higher level of confidence as compared to destructive measurements, except for PROSPECT_3 for the dry matter. In the following, the separability will be further investigated using PROSPECT_4 only.

Table 2: Comparison of the different cultivars using the different biochemical compounds. First the result of an analysis of variance is display with the critical probability (Cp) as metric.

		Destructive	PROSPECT_3	PROSPECT_4
C_{abc}	P value	0.028	7.10^{-5}	2.10^{-5}
	Mean ($\mu\text{g.cm}^{-2}$)	44.0	70.1	61.2
C_m	P value	1.10^{-7}	0.5	3.10^{-11}
	Mean (g.cm^{-2})	0.00491	0.00217	0.00691
C_w	P value	1.10^{-6}	3.10^{-8}	3.10^{-8}
	Mean (g.cm^{-2})	0.016	0.017	0.017
N		-		
R_{surf}		-		

207

208 The Tuckey test (Jaccard et al. 1984) was then used to identify the coupled of cultivars that are
 209 significantly different ($\alpha = 10\%$) (see the methods section for further details). Regarding the
 210 contents in chlorophyllian pigments, water and dry matter, estimates from PROSPECT_4 allows a
 211 better separation between cultivars: more coupled of cultivars appear significantly different as
 212 compared to the destructive measurements. For chlorophyllian pigments (Table 3), the two
 213 significant differences detected by the destructive method is also detected using PROSPECT_4.
 214 However PROSPECT_4 detects three more significant differences, for which 2 of them are almost
 215 significant in the destructive case. For Dry matter content, 5 couples of cultivars are significantly
 216 different for the two methods, while 2 couples appear significant only with the destructive
 217 measurements, and 3 couples only with the ROSPECT_4 estimates. For water content, 6 couples of
 218 cultivars have significant differences for both methods, while only one couple was separated using
 219 PROSPECT_4 only.

220 *Table 3: Difference of mean values of cultivars and associated p-value associated to the Tuckey test*
 221 *applied to PROSPECT_4 estimates (upper right diagonal matrix) and destructive measurements*
 222 *(lower left diagonal matrix) for chlorophyllian pigments, dry matter and water contents. In each cell*
 223 *of the matrix, the signed difference between the two cultivars (row-column) is provided as long as*
 224 *the associated p-value (in parenthesis). Couples of cultivars having a probability lower than $\alpha = 10\%$*
 225 *correspond to the gray cells. Numbers in bold indicate that the differences between the two cultivars*
 226 *is significative for one method but not for the other.*

Chlorophyllian pigments

Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		17.4 (0.00)	9.3 (0.06)	3.4 (0.90)	8.1 (0.15)	6.3 (0.40)
Biensur	7.62 (0.03)		-8.1 (0.15)	-13.9 (0.00)	-9.3 (0.06)	-11.0 (0.01)
Caphorn	2.89 (0.84)	-4.7 (0.40)		-5.8 (0.49)	-1.2 (1.0)	-2.9 ()
Hysun	0.0 (1.0)	-7.62 (0.03)	-2.9 (0.85)		4.6 (0.72)	2.9 (0.95)
Isildur	2.3 (0.93)	-5.29 (0.27)	-0.6 (1.0)	2.3 (0.93)		-1.8 (0.99)
Soissons	1.5 (0.99)	-6.1 (0.13)	-1.3 (0.99)	1.5 (0.99)	-0.8 (1.0)	

Dry Matter

Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		0.0022 (0.00)	0.0006 (0.63)	-0.0006 (0.66)	0.0008 (0.28)	-0.0002 (0.99)
Biensur	0.0004 (0.21)		-0.0016 (0.00)	-0.0027 (0.00)	-0.0014 (0.00)	-0.0024 (0.00)
Caphorn	0.0001 (0.99)	-0.0003 (0.56)		-0.0011 (0.03)	0.0002 (0.99)	-0.0008 (0.24)
Hysun	-0.0005 (0.01)	-0.0009 (0.00)	-0.0007 (0.00)		0.0013 (0.01)	0.003 (0.96)
Isildur	0.0004 (0.24)	-0.0001 (1.0)	0.0003 (0.61)	0.0009 (0.00)		-0.0010 (0.07)
Soissons	-0.0001 (0.98)	-0.0005 (0.03)	-0.0002 (0.74)	0.0004 (0.06)	-0.0005 (0.04)	

Water

Dest. \ P4	Apache	Biensur	Caphorn	Hysun	Isildur	Soissons
Apache		0.0029 (0.00)	0.0016 (0.08)	-0.0003 (1.0)	0.0006 (0.88)	-0.0005 (0.95)
Biensur	0.0022 (0.00)		-0.0014 (0.18)	-0.0032 (0.00)	-0.0023 (0.00)	-0.0034 (0.00)
Caphorn	0.0007 (0.84)	-0.0015 (0.13)		-0.0018 (0.02)	-0.0009 (0.60)	-0.0021 (0.01)
Hysun	-0.0011 (0.41)	-0.0033 (0.00)	-0.0015 (0.03)		0.0009 (0.63)	-0.0002 (1.0)
Isildur	0.0003 (0.99)	-0.0018 (0.03)	-0.0004 (0.99)	0.0015 (0.14)		-0.0011 (0.37)
Soissons	-0.0008 (0.71)	-0.003 (0.00)	-0.0015 (0.10)	0.0002 (1.0)	-0.0012 (0.34)	

227

228 5 Discussion and conclusion

229 Phenotyping applications require the development of methods for processing rapidly and in a non-
 230 destructive way a large number of samples. Alternative to traditional destructive techniques have
 231 been developed during the last decades, mostly based on spectral measurements. Simple spectral
 232 indices or chemometric methods are tentatively used to replace the tedious and expensive
 233 reference destructive measurements. However, these indirect methods require a large and
 234 representative calibration dataset to reach the degree of sensitivity required for phenotyping, i.e.
 235 identifying differences between cultivars. Approaches based on physical models are probably more
 236 robust, but the question of their sensitivity for phenotyping applications was still pending.

237 This study demonstrates that, at least in the case of wheat, physical radiative transfer model of
 238 leaves provides better precision as compared to destructive measurements for chlorophyllian
 239 pigments, water and dry matter contents. Destructive measurements are prone to a number of
 240 errors associated to the measurement of area, mass, and, in the case of chlorophyllian pigments,
 241 extraction, dilution and optical depth measurements. Conversely, methods based on spectral

reflectance measurements appear to be more precise. However, except for the water content, estimates are not accurate, i.e. systematic differences with the reference measurements are observed. For chlorophyllian pigments, the absorption process is represented in the model by the specific absorption coefficient considered as the physical constants characterizing their absorption features. In the PROSPECT model, the specific absorption coefficients were derived over an ensemble of leaves showing non even distribution of pigments within the leaf volume. This changes the average path length of photons, and thus the derived values of the specific absorption coefficient. The use of physical models that explicitly account for the possible gradient of chlorophyll content observed in a number of leaves would probably allow getting more accurate values of the specific absorption coefficients. For dry matter content, the difficulty comes mainly from the relatively weak absorption coefficient with less specific features. For water, the good performances (precision and accuracy) are mainly explained by the strong and specific absorption features as well by the relatively even distribution of water molecules within the leaf volume.

Using physical models allows estimating additional leaf characteristics that are not accessible from destructive measurements: leaf surface reflectivity as well as leaf internal structure. However, it was observed that these estimates were possibly contaminated by compensations between variables in the model inversion process. Further investigation should therefore focus on this aspect, either using a better weighing between the spectral domains or based on some constraints on the parameters using a Bayesian scheme.

The identified traits have finally to be associated to the gene composition (Zhu et al., 2008). The traits should be also associated to a specific functionality in order to better understand their potential interest under a given set of conditions. The usefulness of areal contents in chlorophyllian pigment, water and dry matter was already briefly reviewed in the background section. Further studies have to be conducted to understand the role of the leaf mesophyll structure and leaf surface reflectivity in the light absorption efficiency as well as possible relationship with gas exchange at the leaf level.

6 Methods

6.1 The biological material

The plants from which the leaves were collected were grown in field conditions as described in [18]. The experiment took place near Toulouse at INRA centre Auzeville Tolosan (43°33'N, 1°28'E) in France with deep and homogenous soil conditions. The plants were sown on october 2011 and harvested in june 2012. Three factors were taken into account in the experimental design yielding 36 modalities: 6 cultivars, 2 seeding density (d1: 350 – 390 plant/m² and d2: 150 -170 Plant/m²) and 3 nitrogen levels (N1: low, N2: medium and N3: high). Among the 6 cultivars, there were 2 durum wheat (Isildur and Biensur), one hybrid winter wheat (Hysun) and three other winter wheat cultivars (Apache, Cap-Horn and Soissons).

The dataset contains a total of 372 leaf measurements acquired in April 2012 corresponding to the flowering stage and June 2012 during grain is filling. In April the 36 modalities times the 3 first top leaves were selected for measurements leading to 108 leaves sampled. Unfortunately only 26 modalities were sampled on June which lead to 78 leaves sampled. The described dataset made of 186 leaves was doubled in order to make different chemical analysis.

6.2 The measurements

6.2.1 Destructive measurements

On the first dataset of 186 leaves, each one was weighted (M_{fresh}), their area (S) was measured thanks to the SCANAREA software (http://www4.paca.inra.fr/emmah_eng/Production-Dokumentation/Tools-Models/SCANAREA) and then dried at 80°C in an oven for 2 days. They were finally weighted when completely dry (M_{dry}) to compute the dry matter (Cm in g.cm⁻²) and water content per unit leaf area (Cw in g.cm⁻²) using the following equations:

$$Cm = \frac{M_{dry}}{S} \quad [1]$$

$$Cw = \frac{M_{fresh} - M_{dry}}{S} \quad [2]$$

On the second sub-dataset of 186 corresponding leaves, Chlorophyll a and b as well as carotenoids content were evaluated using [6] method. As the pigment measurements were not made directly after sampling, the samples were first frozen then lyophilized for storage. We arbitrarily consider that the lyophilized weight is equivalent to the dry weight, this is why could transform the A µg/g estimation was made into µ g/cm² thanks to the SLW computed on the first dataset.

6.2.2 Spectral measurements

The optical properties of the leaves were acquired on the 186 leaves from the first dataset using an ASD Fieldspec spectroradiometer FR3 (www.asdi.com) equipped with an integrating sphere Li-Cor 1800-12 (www.licor.com). The spectroradiometer samples the 400 to 2500 nm spectral domains with 1-nm sampling steps and a spectral resolution around 1 nm in the visible domain and 3 nm in the NIR domain. The incoming light was almost normal to the leaf sample while the bare fiber of the spectroradiometer (field of view) viewed the integrating sphere wall under a 25° field of view, perpendicularly to the sample position. The original Li-Cor lamp system of the integrating sphere was replaced by a lamp connected to a stabilized power supply. The infrared filter placed in front of the original light source was removed as well. A Teflon white panel was used as the background of the leaf as proposed by Stuckens et al. (2009) to increase the optical path in the leaf, thus enhancing the absorption features. Another Teflon white panel was used as a secondary reference to compute the directional-hemispherical reflectance factor (DHRF) of the leaf-white background system. The absolute DHRF of the secondary Teflon white reference was calibrated against a spectralon primary reference panel [Höpe 2010]. The Teflon secondary reference was sampled every 18 leaf measurements, while the Teflon white background was sampled every 6 leaves to account for its slight optical change due to the contact with leaves. The DHRF of the leaf was computed as:

$$DHRF_{sample}(\lambda) = \frac{2 S_{sample}(\lambda)}{(S_{ref1}(\lambda) + S_{ref2}(\lambda))} DHRF_{ref}(\lambda) \quad [3]$$

Where $DHRF_{sample}(\lambda)$ is the DHRF of the sample, $S_{sample}(\lambda)$ the signal measured over the sample, $S_{ref1}(\lambda)$ and $S_{ref2}(\lambda)$ the signal of the background acquired respectively before and after the sample measurements and $DHRF_{ref}$ the DHRF of the Teflon secondary reference.

6.3 Retrieving information from PROSPECT

6.3.1 The PROSPECT model

The PROSPECT model [10] is an extension of Allen [7] plate model to multiple layers (plates) using the stokes system of equations [19]. It is driven by a structure parameter, N , which represents the equivalent number of homogenous elementary layers, by the refraction index, n , of each elementary layer (assumed the same for all the layers) and by an absorption coefficient computed as the sum of the specific absorption coefficients of each constituent, weighed by their corresponding areal content. The original calibration of the specific absorption coefficients and the refraction index were updated by Baret et al. [20] using a data set of 58 leaves representing a broad range of species, and resulted in PROSPECT_3. PROSPECT_3 includes as well the absorption of the brown pigments, i.e. polyphenols that appear during leaf senescence. More recently, Feret et al. [16] proposed another

update of the specific absorption coefficient and refraction index using a larger set of leaf reflectance and transmittance measurements. It resulted into PROSPECT_4 where chlorophyll and carotenoids and merged into the chlorophyllian pigments, and PROSPECT_5 where chlorophyll and carotenoids are described separately. Note the two former versions of PROSPECT, no brown pigments were included.

6.3.2 Adaptation of PROSPECT for the measurement configuration

PROSPECT simulates the hemispherical reflectance and transmittance of the leaf from the knowledge of the contents in chlorophyll, carotenoid, water and dry matter, and brown pigments for PROSPECT_3, as well as the mesophyll structure parameter, N , and a parameter describing the surface reflectivity. However, conversely to the original version of PROSPECT, the surface reflectivity was not computed using Fresnel equations and a solid angle describing the directions of the incoming light, but by a surface reflectivity, R_{surf} assumed to be independent on wavelength as suggested by Comar et al. 2012. This allows representing the possible variation in leaf surface reflectivity in a more simple and flexible way. The leaf over its white Teflon background is described in Figure 6.

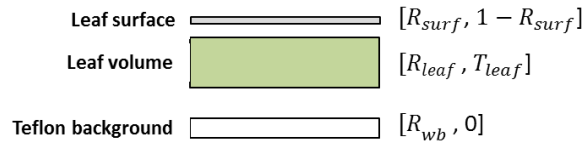


Figure 6. The system of the leaf over the white Teflon background. On the right, the bi-hemispherical reflectance and transmittance values of each layer is indicated.

The system is solved in two steps. First the reflectance of the leaf volume over the white Teflon background, R_{vol}^{wb} , is computed as:

$$R_{vol}^{wb} = R_{leaf} + \frac{R_{wb} T_{leaf}^2}{1 - R_{leaf} R_{wb}} \quad [4]$$

Where R_{leaf} is the leaf reflectance computed from the PROSPECT model where the reflectivity of the surface was set to 0; T_{leaf} is the corresponding leaf transmittance and R_{wb} is the hemispherical reflectance of the Teflon white background. Note that equation [4] assumes that the properties of the leaf are the same on both faces and that the directional hemispherical reflectance and transmittance are equal to the bi-hemispherical corresponding quantities. Then, the reflectance of the leaf over the white background was computed using the surface reflectivity, assuming that the transmittivity of the first interface was $1 - R_{surf}$, i.e. there is no absorption:

358

$$R_{leaf}^{wb} = R_{surf} + \frac{R_{vol}^{wb} (1 - R_{surf})^2}{(1 - R_{surf} R_{vol}^{wb})} [5]$$

359

360

361

362

Finally, since the incident light spot on the leaf may sometimes illuminate directly the white background in case of small leaves, an additional parameter was introduced to describe this situation: f_{wb} , the fraction of white Teflon background illuminated directly by the light source. The corresponding reflectance of the system writes:

363

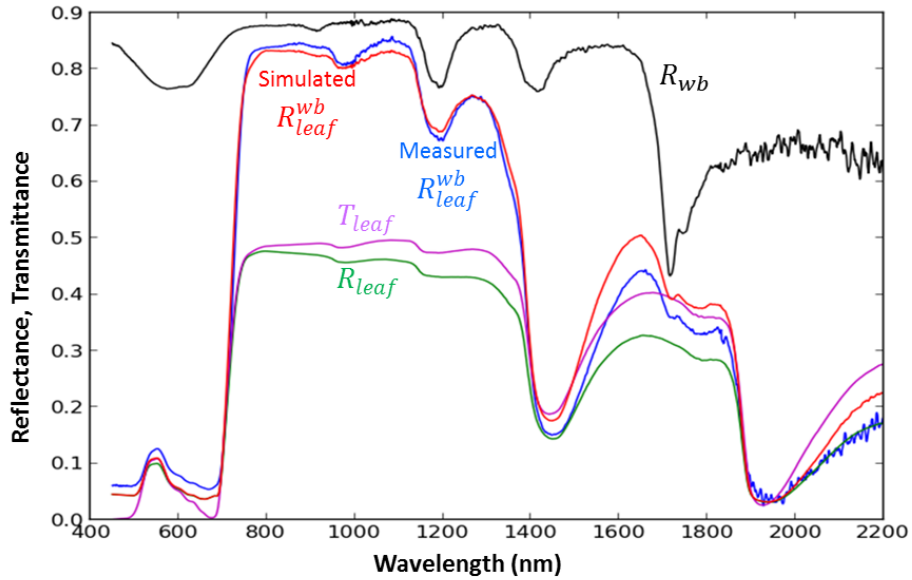
$$R = R_{wb} \cdot f_{wb} + (1 - f_{wb}) \cdot R_{leaf}^{wb} [6]$$

364

365

366

Figure 7 provides some comparison between the several terms used in equations [4] and [5] along with a measured leaf reflectance spectra that shows generally a good agreement with the simulated one, after tuning the parameters.



367

368

369

Figure 7. Comparison between the several terms used to compute the leaf reflectance over a white Teflon background.

370

6.3.3 Adjustment of PROSPECT model parameters

371

372

373

374

The parameters of the PROSPECT model [Cc , Cab , $Cabc$, Cm , Cw , N , R_{surf} , f_{wb}] were adjusted over the mean reflectance measurements achieved over each of the 186 leaves. This was achieved by minimizing a cost function, J , corresponding to the Euclidian distance between the measured and the simulated reflectance spectra:

375

$$J = \sqrt{\frac{1}{1800} \sum_{\lambda=400}^{\lambda=2200} \left(R_{prospect}^{wb*}(\lambda) - R_{leaf}^{wb}(\lambda) \right)^2} [6]$$

The Levenberg-Marquart [21] as proposed in Sci-Py (optimize library) algorithm is used to minimize the function. As this algorithm may be trapped into local minima, the inversion was run using 4 different initial guesses, taking into account the one providing the minimum value of J . Penalization of the cost function was added when the parameters were out of bounds in order to select only physically plausible solutions.

7 List of abbreviation used

PLSR: Partial least square regression, Cm Dry matter content (input of PROSPECT model), SLW specific leaf weight is exactly the same as Cm, Cw: water content, Competing interest

8 Author's contributions

Alexis Comar participate in designing and making the experiment, processing the data and wrote the manuscript, Philippe Burger participated in making the experiment, analyzing the data and corrected the manuscript, Benoit de Solan and Fred Baret participated in designing the experiment and improved the manuscript, Jean Michel Roger help in the chemometric part of the data analysis and corrected the manuscript .

9 Author's information

No competing interest

10 Acknowledgments

We would like to thank all the INRA team that grow the wheat:???

11 References

1. Walter A, Studer B, Kölliker R: **Advanced phenotyping offers opportunities for improved breeding of forage and turf species**. *Ann Bot* 2012.
2. Furbank RT, Tester M: **Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck**. *Trends in Plant Science* 2011, **16**:635–644.
3. Zhao D, Glynn NC, Glaz B, Comstock JC, Johnson RM: **Development of Leaf Spectral Models for Evaluating Large Numbers of Sugarcane Genotypes**. *Crop Sci.* 2012, **52**:1837–1847.

- 402 4. Moran R: **Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N, N-**
403 **dimethylformamide.** *Plant Physiology* 1982, **69**:1376–1381.
- 404 5. Inskeep W, Bloom P: **Extinction Coefficients of Chlorophyll-a and Chlorophyll-B in N,n-**
405 **Dimethylformamide and 80-Percent Acetone.** *Plant Physiol.* 1985, **77**:483–485.
- 406 6. Wellburn AR, Lichtenthaler H: **Formulae and program to determine total carotenoids and**
407 **chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.** *Advances in photosynthesis research.*
408 *Vol.II.* 1984:9–12.
- 409 7. Allen WA, Gausman HW, Richardson AJ, Thomas JR: **Interaction of isotropic light with a compact**
410 **plant leaf.** *JOSA* 1969, **59**:1376–1379.
- 411 8. Howard JA: **Luminance and Luminous Intensity Indicatrices of Isobilateral Leaves.** *Applied optics*
412 1971, **10**.
- 413 9. Breece Iii HT, Holmes RA: **Bidirectional scattering characteristics of healthy green soybean and**
414 **corn leaves in vivo.** *Applied optics* 1971, **10**.
- 415 10. Jacquemoud S, Baret F: **Prospect - a Model of Leaf Optical-Properties Spectra.** *Remote Sens.*
416 *Environ.* 1990, **34**:75–91.
- 417 11. Dawson TP, Curran PJ, Plummer SE: **LIBERTY—Modeling the Effects of Leaf Biochemical**
418 **Concentration on Reflectance Spectra.** *Remote Sensing of Environment* 1998, **65**:50–60.
- 419 12. Jacquemoud S, Ustin SL: **Modeling leaf optical properties.** *Photobiological Sciences Online* 2008.
- 420 13. Fourty T, Baret F, Jacquemoud S, Schmuck G, Verdebout J: **Leaf optical properties with explicit**
421 **description of its biochemical composition: Direct and inverse problems.** *Remote Sensing of*
422 *Environment* 1996, **56**:104–117.
- 423 14. Jacquemoud S, Ustin SL, Verdebout J, Schmuck G, Andreoli G, Hosgood B: **Estimating leaf**
424 **biochemistry using the PROSPECT leaf optical properties model.** *Remote Sens. Environ.* 1996,
425 **56**:194–202.
- 426 15. Jacquemoud S, Verhoef W, Baret F, Bacour C, Zarco-Tejada PJ, Asner GP, Francois C, Ustin SL:
427 **PROSPECT plus SAIL models: A review of use for vegetation characterization.** *Remote Sens.*
428 *Environ.* 2009, **113**:S56–S66.

- 429 16. Feret J-B, Francois C, Asner GP, Gitelson AA, Martin RE, Bidel LPR, Ustin SL, Le Maire G,
430 Jacquemoud S: **PROSPECT-4 and 5: Advances in the leaf optical properties model separating**
431 **photosynthetic pigments**. *Remote Sens. Environ.* 2008, **112**:3030–3043.
- 432 17. Becker RA, Chambers JM, Wilks AR: *The New S Language: A Programming Environment for Data*
433 *Analysis and Graphics*. Wadsworth & Brooks/Cole Advanced Books & Software; 1988.
- 434 18. Comar A, Baret F, Viénot F, Yan L, De Solan B: **Wheat leaf bidirectional reflectance**
435 **measurements: Description and quantification of the volume, specular and hot-spot scattering**
436 **features**. *Remote Sensing of Environment* 2012, **121**:26–35.
- 437 19. Stokes GG: **On the intensity of the light reflected from or transmitted through a pile of plates**.
438 *Proceedings of the Royal Society of London* 1860, **11**:545–556.
- 439 20. Baret F, Fourty T: **Estimation of leaf water content and specific leaf weight from reflectance**
440 **and transmittance measurements**. *Agronomie* 1997, **17**:455–464.
- 441 21. Marquardt DW: **An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters**. *Journal of*
442 *the Society for Industrial & Applied Mathematics* 1963, **11**:431–441.
- 443 22. Li P, Wang Q: **Retrieval of Leaf Biochemical Parameters Using PROSPECT Inversion: A New**
444 **Approach for Alleviating Ill-Posed Problems**. *IEEE Trans. Geosci. Remote Sensing* 2011, **49**:2499–
445 2506.

446

A semi-automatic system for high throughput phenotyping wheat cultivars in-field conditions: description and first results

Alexis Comar^{A,B,E}, Philippe Burger^C, Benoit de Solan^{A,B}, Frédéric Baret^B,
Fabrice Daumard^{C,D} and Jean-François Hanocq^B

^AARVALIS Institut du végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, 75116 Paris, France.

^BINRA – UAPV, UMR EMMAH, Domaine Saint-Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon, France.

^CINRA – INPT, UMR 1248 AGIR, F-31320 Castanet-Tolosan, France.

^DLaboratoire de Météorologie Dynamique, Equipe Fluorescence et Télédétection, Ecole Polytechnique, 91128 Palaiseau Cedex, France.

^ECorresponding author. Email: alexis.comar@etd.univ-avignon.fr

Abstract. A semi-automatic system was developed to monitor micro-plots of wheat cultivars in field conditions for phenotyping. The system is based on a hyperspectral radiometer and 2 RGB cameras observing the canopy from ~1.5 m distance to the top of the canopy. The system allows measurement from both nadir and oblique views inclined at 57.5° zenith angle perpendicularly to the row direction. The system is fixed to a horizontal beam supported by a tractor that moves along the micro-plots. About 100 micro-plots per hour were sampled by the system, the data being automatically collected and registered thanks to a centimetre precision geo-location. The green fraction (GF, the fraction of green area per unit ground area as seen from a given direction) was derived from the images with an automatic segmentation process and the reflectance spectra recorded by the radiometers were transformed into vegetation indices (VI) such as MCARI2 and MTCI. Results showed that MCARI2 is a good proxy of the GF, the MTCI as observed from 57° inclination is expected to be mainly sensitive to leaf chlorophyll pigments. The frequent measurements achieved allowed a good description of the dynamics of each micro-plot along the growth cycle. It is characterised by two periods: the first period corresponding to the vegetative stages exhibits a small rate of change of VI with time; followed by the senescence period characterised by a high rate of change. The dynamics were simply described by a bilinear model with its parameters providing high throughput metrics (HTM). A variance analysis achieved over these HTMs showed that several HTMs were highly heritable, particularly those corresponding to MCARI2 as observed from nadir, and those corresponding to the first period. Potentials of such semi-automatic measurement system are discussed for in field phenotyping applications.

Additional keywords: dynamics, green fraction, heritability, hyperspectral, vegetation indices.

Received 27 February 2012, accepted 10 July 2012, published online 20 August 2012

Introduction

Plant breeding has played a major role in the improvement of production in quantity and quality for a long time. In recent years, techniques have been developed for the description of the genome, the proteome, the metabolome or the transcriptome. These ‘omics’ communities have been successful in accumulating information around the genome. For example, Benson (2012) describes GenBank, a publicly available database that contains nucleotide sequences of more than 250 000 formally described species. The best described crop species is corn (*Zea mays* L.) with over 5×10^9 base pairs recorded in August 2011. However, efficient use of this information requires an equivalent amount of descriptors of the phenotype (Furbank and Tester 2011). Once phenotyping matches the genotyping throughput, plant breeding will be much more efficient.

Medium throughput techniques have recently been developed under controlled conditions within greenhouses, based on automatic belt transporters of individual plants in pots (Furbank and Tester 2011). This has led to advances in our knowledge about plant physiology and its genetic control (Boyes *et al.* 2001). However, even though phenotyping under controlled conditions allows disentangling of some structural or functional traits, it is far from being representative of actual environmental conditions experienced by a plant in the field. In-field high throughput phenotyping has been recognised recently as one of the major bottlenecks for plant breeding (Montes *et al.* 2007). Further, in-field experiments are mandatory in many countries to obtain the homologation of new cultivars (Directive 2002/55/CE). Further, finer characterisation of the behaviour of new cultivars in realistic conditions, i.e. in field, would provide the pertinent information

to be used by the farmer to optimally manage a crop and exploit fully the potentials of each cultivar.

Phenotyping in field is currently mostly based on destructive measurements and visual notations. This corresponds to low to medium throughput techniques that generally correspond to 'static' data, i.e. resulting from measurements achieved at a single or very few dates through a growth cycle. High throughput phenotyping techniques are, therefore, highly desirable for the frequent monitoring of micro-plots of size $\sim 10\text{--}50\text{ m}^2$ within experimental field platforms hosting a few thousand micro-plots. Such phenotyping methods have been recently reviewed by Furbank and Tester (2011) and Montes *et al.* (2007). They are currently generally derived from remote sensing techniques or from systems designed for precision agriculture and are based on thermal infrared (Jones *et al.* 2009; Munns *et al.* 2010; Winterhalter *et al.* 2011), passive or active multi-spectral (Mistele and Schmidhalter 2010) and hyperspectral (Babar *et al.* 2006) measurements achieved either from airborne or tractor borne systems. The challenge in the development of such techniques is to reach high throughput both for data acquisition and processing as well as to derive metrics that are meaningful in regards to canopy structure and function.

The aim of the present study was to describe such a high throughput tractor borne phenotyping system based on digital imagery in the visible range and non-imaging hyperspectral measurements in the VIS-NIR range. This was made possible by the advances made by the remote sensing community over the past decade regarding the selection of the observational configuration and the interpretation of measurements. The system uses real time centimetre accuracy geo-location allowing for automatic triggering of the devices. The system was deployed over a micro-plot wheat experiment during a significant part of a growth cycle. Results were analysed with an emphasis on the capacity of the system to describe the dynamics of canopy structure and leaf chlorophyll. The capacity of such a system to identify traits was compared with that of the destructive measurements achieved at harvest. The limitations, potentials and future improvements of such a system are discussed.

Materials and methods

The experiment

The experiment took place near Toulouse at the INRA centre of Auzeville Tolosane (43°33'N, 1°28'E) in France. The experimental field was flat and its soil deep and homogeneous. Three factors were taken into account in the experimental design yielding 36 modalities: six cultivars, two seeding densities (d1, 350–390 plants m^{-2} ; d2, 150–170 plants m^{-2}) and three nitrogen levels (N1, low; N2, medium; N3, high). Among the six cultivars, there were two durum wheat (*Triticum durum* L. Isildur and Biensur), as well as four *Triticum aestivum* L. (common wheat) cultivars: Apache, Cap-Horn, Soissons and a hybrid cultivar named Hysun. A total of 108 micro-plots ($5 \times 2\text{ m}$) were sown corresponding to three replicates for each combination of factors, allowing for destructive measurements during the growing season. Over the 108 available micro-plots, only 36 corresponding to the 36 modalities described were sampled by

the system through the whole season. Measurements were made approximately weekly between the two nodes stage and harvest. Measurements were completed within $\sim 1\text{ h}$ and started from 1000–1200 hours solar time depending on illumination conditions and season. Clear sky conditions were preferentially selected for sampling of micro-plots. Total biomass, yield, total nitrogen content, and nitrogen in the grains were additionally measured at harvest.

The sensing system

The system (Fig. 1) was designed to measure over each micro-plot the corresponding green fraction and reflectance from two contrasted and complementary geometrical configurations: (i) nadir view, which maximised the sensitivity to canopy architecture and to the green area index (GAI); and (ii) 57.5° zenith angle view perpendicularly to the rows, which minimised the sensitivity to canopy architecture (Baret *et al.* 2010). Further, for such inclined views, the sensitivity to leaf optical properties was enhanced since the fraction of vegetation seen is maximised as compared with nadir looking measurements.

Four identical spectrometers (MMS 1 Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) assembled by Tec5 (Oberursel, Germany) were setup to measure hyperspectral reflectance in the 400–1000 nm range with a 3 nm full width at half maximum (FWHM) spectral resolution. Each spectrometer was connected to an optical fibre with an aperture of 25°. One spectrometer measured the irradiance through a cosine-corrected probe. It was oriented towards the sky and maintained vertically by a counterweight system. Another spectrophotometer was looking from nadir; the two last ones were looking at 57.5° on both sides of the micro-plots, i.e. perpendicularly to the row. These two opposite azimuths were used to better sample the directional effects that strongly depend on illumination conditions. A BF2 system (Delta-T Devices, Cambridge, UK) was set up beside the irradiance head to characterise the illumination conditions during each individual measurement by measuring the incoming PAR (400–700 nm) and the associated diffuse fraction.

Two digital cameras Canon (Tokyo, Japan) 1000D with a 3888×2592 pixels CMOS sensor were set up at nadir and 57.5° to measure the green fraction. Synchronised Xenon flashes (FR50, Lumix, Lyon, France) were placed close to the cameras to make the measurements independent from the natural illumination conditions, which were highly variable. Conversely to the two spectrometers looking at 57°, one azimuth direction perpendicular to the rows was sufficient to estimate the green fraction from RGB images, which were independent from the natural illumination conditions.

The system was set up on a boom oriented perpendicularly to the tractor carrying the whole system on its right hand side. The boom was equipped with rails to allow the system to sample the micro-plot next to the tractor or the one adjacent to it. The tractor moved parallel to the rows and the boom was maintained $\sim 1.5\text{ m}$ above the top of the canopy. A Global Positioning System (GPS) using the Real Time Kinematic (RTK) technique with signals from a Virtual Reference Station (VRS) network provided the position of the system at 10 Hz frequency within 1 cm accuracy. The whole system was controlled by a computer that automatically triggered the spectrometers and the cameras at

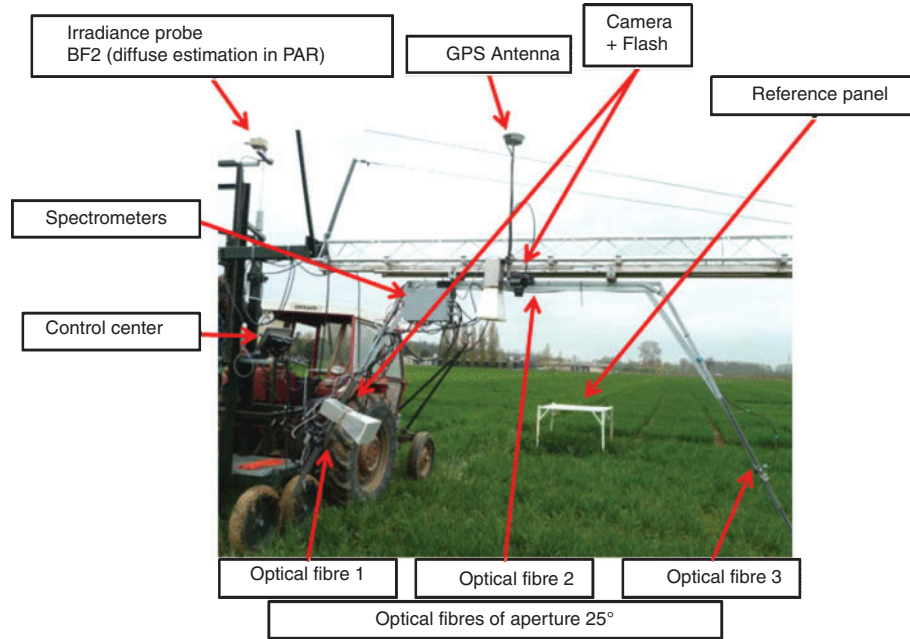


Fig. 1. The system used to sample the micro-plots.

predefined positions within the micro-plots and recorded in a consistent way the measurements along with the associated meta-information: time, position, name of the micro-plot, incident PAR and diffuse fraction.

The sampling of the micro-plot was achieved by taking pictures at three positions along the micro-plot. Note that the positions were the same across seasons, ensuring a consistent description of the dynamics. Further, the focus was tuned before each measurement according to wheat height growth. This set-up avoided blurred images and allowed a rapid and precise acquisition. For the side looking camera, the original 29.8° vertical field of view was restricted to 10° to be closer to the 57.5° zenith angle ($57.5 \pm 5^\circ$). The original 43.2° horizontal field of view was restricted to 32.2° . For the nadir viewing camera, the extracted square central area corresponds to a field of view of 15° in both vertical and horizontal orientations. The resulting extracted images at 57.5° and 0° have, respectively, a size of 2900×1000 pixels and 1300×1300 pixels. At a height of 2 m above the ground, the nadir camera samples a $52 \times 52 \text{ cm}^2$ area.

Hyperspectral measurements were taken along a longitudinal transect in each micro-plot. The number of spectra acquired within each transect was dependant on the integration time: for a very cloudy day with long integration time, only 10 spectra were recorded on a micro-plot, whereas during sunny days up to 80 spectra per micro-plot were recorded. The spectra were not recorded during the acquisition of the cameras in order to prevent undesirable effects due to the flashes. The whole system was designed so that digital images and reflectance spectra acquired from 0° and 57.5° were sampling approximately the same canopy volume. All the spectra were resampled at a 1 nm wavelength step using Lagrange polynomials. Then, an automatic identification of outliers was set up based on the shape of the spectra and the consistency of the values along the transect.

The canopy bidirectional reflectance factor (BRF) was computed by continuously correcting the signal measured by the spectrometers over the canopy for the incident radiation measured by the cosine corrected probe and by comparison with a reference panel (every 30 min) to provide the absolute reflectance factor value. Eqn 1 describes the way the raw signal measured by the spectrometers was transformed into calibrated BRF values:

$$BRF_{\text{can}}(\lambda, \Omega_v, \Omega_s) = C_0(\lambda, \Omega_v) \frac{S_{\text{can}}(\lambda, \Omega_v, \Omega_s)}{S_{\text{can}}^{\text{irr}}(\lambda, \Omega_s)} \cdot \frac{S_{\text{ref}}^{\text{irr}}(\lambda, \Omega_s)}{S_{\text{ref}}(\lambda, 0, \Omega_s)} \cdot BRF_{\text{ref}}(\lambda, 0, \Omega_s), \quad (1)$$

where $BRF_{\text{can}}(\lambda, \Omega_v, \Omega_s)$ is the absolute BRF value at the wavelength λ for the viewing configuration Ω_v and illumination geometry Ω_s , $S_{\text{can}}(\lambda, \Omega_v, \Omega_s)$ is the raw signal from the fibre measuring the radiation reflected by the crop, $S_{\text{can}}^{\text{irr}}(\lambda, \Omega_s)$ is the signal output measured by the cosine corrected probe at the same time as $S_{\text{can}}(\lambda, \Omega_v, \Omega_s)$. $S_{\text{ref}}(\lambda, 0, \Omega_s)$ is the signal recorded by the nadir fibre over the reference panel and $S_{\text{ref}}^{\text{irr}}(\lambda, \Omega_s)$ is the corresponding irradiance signal recorded at the same time. $BRF_{\text{ref}}(\lambda, 0, \Omega_s)$ is the absolute reflectance factor of the reference panel for nadir viewing. For practical reasons, the reference panel was sampled only by the nadir looking fibre. The fibres looking at 57° were independently inter-calibrated with the nadir looking one based on the $C_0(\lambda, \Omega_v)$ coefficient.

The reference panel set horizontally in the field, was a grey carpet ($1.5 \times 1.5 \text{ m}$, Fig. 1) of known $BRF_{\text{ref}}(\lambda, 0, \Omega_s)$. It was preferred to other reference panels such as spectralon because it shows a quasi Lambertian bidirectional reflectance distribution function (BRDF) with values closer to those measured on the

canopies, preventing possible saturation effects; because the carpet used behaves very closely to a Lambertian surface $BRF_{ref}(\lambda, 0, \Omega_s) \sim \text{constant}$, it was not necessary to account for the diffuse fraction when computing the panel BRDF (Höpe and Hauer 2010).

Canopy reflectance depends on several variables including the illumination conditions (Roujean *et al.* 1992): radiometric measurements are, therefore, influenced by the sun position and the diffuse fraction. The typical sun position time course during the completion of the series of micro-plots shows that the sun zenith angle was always in the range of 25° to 40° (Fig. 2). Further, the sun azimuth was always close to the row direction: observations at 57° were, therefore, close to the plane perpendicular to the illumination plane where the BRDF is expected to be symmetric with regards to the illumination plane (Roujean *et al.* 1992). Note also that almost no measurements were taken when the sun was parallel to the rows (Fig. 2). This particular situation where the soil is illuminated creates a local increase of canopy reflectance, particularly when observed from nadir, was, therefore, avoided. Finally, the sun azimuth relative to the row direction minimised the probability of tractor creating a shadow on the footprint of the camera or the spectrometers.

Data processing

Deriving the green fraction from the RGB images

The green fraction was derived from the RGB images with a semi-automatic classification process based on the segmentation of a red-green (RG)-bidimensionnal histogram (Vincent and Soille 1991; Clément and Vigouroux 2003). The SATVA algorithm (https://www4.paca.inra.fr/emmah_eng/Production-Dokumentation/Tools-Models/SATVA, accessed 15 February

2012) uses a database containing RG histograms and the associated class segmentation. The algorithm identifies the most similar RG histogram and applies the corresponding classes. However, when the difference between the RG histogram of a processed image and that of the database is above a given threshold, manual segmentation is applied. The artificial illumination provided by the flashes improved significantly the image quality and the classification performances. This is mostly noticeable under clear sky illumination conditions: the flash diminishes the high contrast between the top of the canopy – well illuminated – and the bottom – poorly illuminated – that would make the segmentation difficult. The uncertainty achieved on the green fraction due to the classification process is around 0.03. Few images were not usable because of blurring in windy conditions or problems with flash triggering of the camera.

Spectral reflectance and vegetation indices

Vegetation indices (VI) are particular combination of spectral bands that aim at enhancing the sensitivity to specific canopy characteristics while minimising the effect of other factors such as soil background or illumination conditions (Baret and Guyot 1991). The community has been very active in the development of VIs for almost 30 years. However, several studies have shown that many VIs are highly correlated and even mathematically equivalent, i.e. two VIs are analytically related. Rather than considering a large number of VIs, two have been selected based on a literature review targeting the main canopy characteristics accessible from remote sensing observations in the visible to near infrared spectral domain. These vegetation indices have been computed using high spectral resolution reflectance values. The modified canopy adjusted ratio index 2 (MCARI2) correlates strongly with LAI (Haboudane *et al.* 2004). It is computed as:

$$MCARI2 = 1.5 \frac{2.5(\rho_{800} - \rho_{670}) - 1.3(\rho_{800} - \rho_{550})}{\sqrt{(2\rho_{800} + 1)^2 - (6\rho_{800} - 5\sqrt{\rho_{670}}) - 0.5}}, \quad (2)$$

where ρ_λ is the reflectance value measured at wavelength λ . MERIS terrestrial chlorophyll index (MTCI) is supposed to be very sensitive to the chlorophyll content (Dash and Curran 2004). It is computed as:

$$MTCI = \frac{\rho_{753} - \rho_{708}}{\rho_{708} - \rho_{681}}. \quad (3)$$

These VIs were computed for each micro-plot, each measurement date and under nadir and the two opposite 57° oblique viewing. However, because the two 57° observations were measured close to the plane perpendicular to the illumination plane, as explained previously (Fig. 2), their values should be symmetric. The observed symmetry of the relative difference between the VIs computed with the two 57° measurements (Fig. 3) demonstrates that this assumption was verified. This means that the azimuth position of the sun does not impact significantly on the selected VIs when looking perpendicular to the row direction. This observation allows averaging the two 57° observations to get a more standardised and robust VI value.

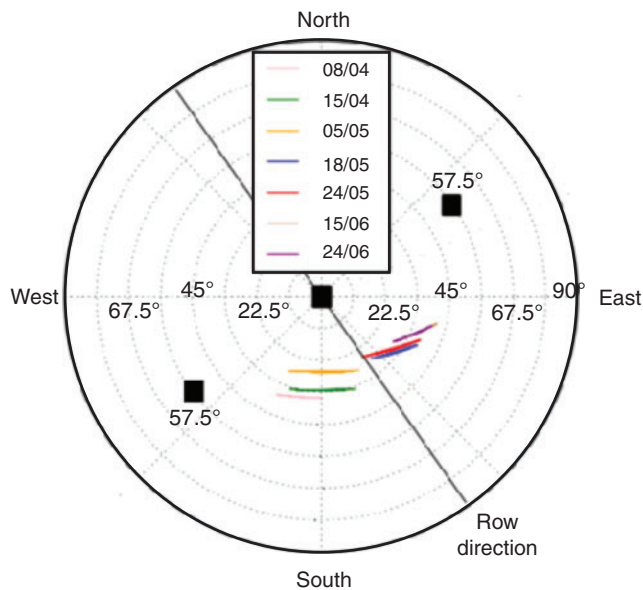


Fig. 2. Geometrical configuration experienced during the measurements represented in a polar diagram. The sun position during 7 typical measurement days is represented by the coloured lines. The view directions of the three spectrometers are indicated by the three black squares. The direction of the rows is also indicated.

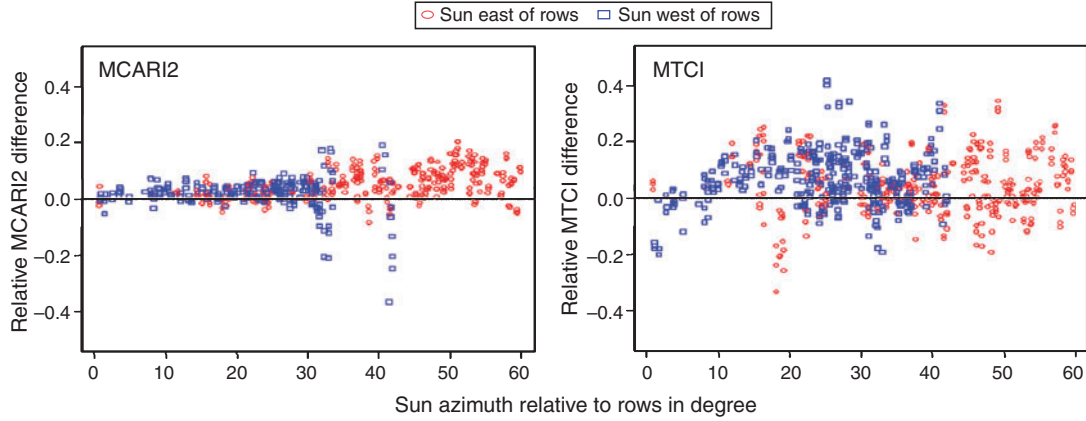


Fig. 3. Variation of the relative difference in MCARI2 (left) and MTCI (right) as a function of the azimuth of the sun relative to the row direction. When the sun is east of rows (red circles), the relative difference is computed as $(VI_{\text{Fibre1}} - VI_{\text{Fibre3}}) / (VI_{\text{Fibre1}} + VI_{\text{Fibre3}})$ cf. Fig. 1 for fibre position. Reciprocally, when the sun is west of rows (blue squares), the relative difference is computed as $(VI_{\text{Fibre3}} - VI_{\text{Fibre1}}) / (VI_{\text{Fibre1}} + VI_{\text{Fibre3}})$. The symmetry of the relative difference with regards to sun azimuth is demonstrated by the good match between observations when the sun is east and west of the rows.

Building datasets from the measurements

Two sets of data were considered depending on the objective: a first set with emphasis on the consistency between GF and MCARI2 (called GF/VI_set1) and a second one concentrating on the VIs only (called VI_set2) with attention paid to representativeness of the micro-plot and improved temporal frequency of observations. This particular focus on VIs was mainly motivated by the higher reliability of acquisitions with the spectrometers compared with cameras. About 20% of the camera images were unusable due to blurring, flash synchronisation issues or connection with the control centre. Further, VIs are sensitive to both vegetation structure and biochemical content, potentially providing more information than GF derived from RGB cameras.

The first set of data (GF/VI_set1) was restricted to seven acquisition dates (04/08, 04/15, 05/05, 05/18, 05/24, 06/15, 06/24) during which all the GF and VI measurements were available over all the 36 micro-plots. Further, to maximise the consistency between GF and MCARI2 measurements, only the MCARI2 data located close to each image were considered. For this GF/VI_set1 dataset, each micro-plot was, therefore, represented by three replicates corresponding to the support area of the cameras.

The second set of data (VI_set2) includes all the available VI measurements for each of the 36 micro-plots representing between 12 and 21 dates, depending on the micro-plot. All the VIs recorded over a micro-plot were averaged. The relative root mean square error (RRMSE) was computed for each VI over all the dates (D) and plots ($P(d)$) available for a given date d to characterise the measurement uncertainty from the $M(p, d)$ repetitions (m) of the measurements over micro-plot p :

$$\text{RRMSE} = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{p=1}^{P(d)} \sum_{m=1}^{M(p,d)} (VI_{d,p,m} - \overline{VI}_{d,p})^2}{\sum_{d=1}^D \sum_{p=1}^{P(d)} M(p, d)}}}{\max(VI) - \min(VI)}, \quad (4)$$

where $\overline{VI}_{d,p}$ is the average VI value for plot p at date d , $VI_{d,p,m}$ is the VI value of repetition m of the measurement over plot p for

date d ; $\max(VI)$ and $\min(VI)$ are, respectively, the maximum and minimum VI value over the whole set of measurements available. Results show that RRMSE is around 2% for all the VIs. This metric describes only the variability within the plots. Unfortunately, other sources of uncertainties exist, including possible sensor radiometric calibration drift that was assumed negligible because of the good stability of the instrument and the frequent calibrations over the reference panel. Most of the residual uncertainty may, thus, come from the variability in the illumination conditions. The relative smoothness of the VI time course indicates that this effect was probably also limited (see below).

Results

The VI and GF observed from nadir and 57° is first described based on the GF/VI_set1 dataset. This allowed evaluation of the respective sensitivity of MCARI2 and MTCI to canopy structure depending on the view direction. The dynamics of the VIs are then analysed and modelled based on a simple empirical model fitted on the VI_set2 dataset. Finally, the parameters of the model or combinations of these parameters are used to assess their performances for cultivar selection.

Green fraction and VI measurements

MCARI2 and green fraction were strongly correlated (adjusted $R^2=0.94$, Fig. 4). This result demonstrates the quality and consistency of the acquisition and processing procedure for both RGB images and hyperspectral measurements. The same linear regression relates GF and MCARI2 for 0° and 57° view directions. GF at 57° saturates over most of the measurement period with values close to 100% (full green cover) as already observed by Baret *et al.* (2010). MCARI2 showed a residual variability for the large GF values, possibly due to some sensitivity to leaf optical properties and to other structural variables than GF. Conversely at 0° , both GF and MCARI2 showed a large range of values with almost no saturation.

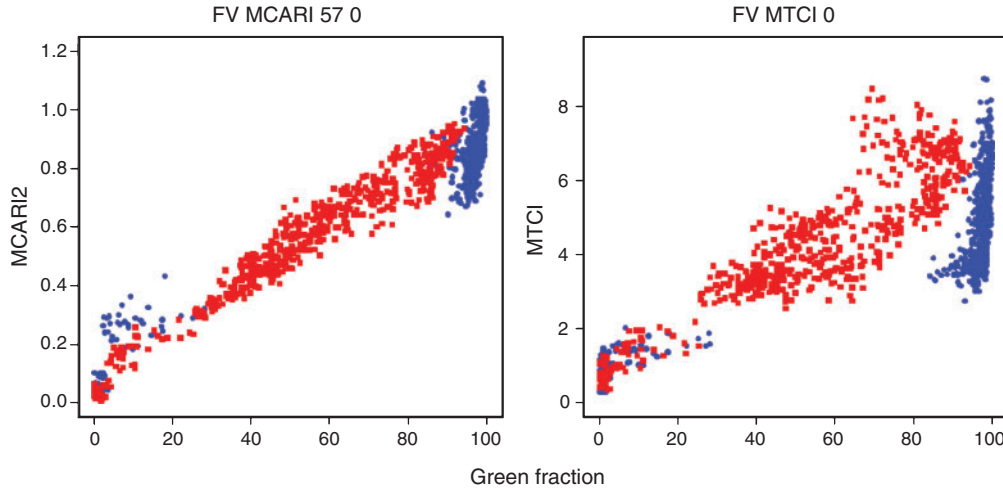


Fig. 4. MCARI2 and green fraction (left plot) and MTCI and green fraction (right plot) relationship for the GF/VI_set1 dataset as observed from the same zenith angle $\theta = 0^\circ$ (red squares) and $\theta = 57^\circ$ (blue dots).

MTCI both at 0° and 57° is also correlated with GF (adjusted $R^2 = 0.64$, Fig. 4). However, the scattering around the main relationship was much greater than for MCARI2. As MTCI has been designed to maximise the sensitivity to chlorophyll content, we assume that the variability observed in MTCI values are, thus, mainly due to changes in leaf optical properties in relation to the chlorophyll content, as observed by Dash and Curran (2004). At 57° , MTCI was independent from the GF during most of the measurement period it was, therefore, providing an additional information other both MTCI(0°) and green fraction.

Dynamics of VIs

The VI_set2 data was selected for this study, ensuring a better spatial representativeness of each micro-plot and providing a larger number of observation dates. The time scale used to represent the dynamics of VIs is expressed in $^\circ\text{C}\cdot\text{day}$ (base 0°C) to minimise the effect of temperature on plant growth and development. In this experiment, the limits of the time scale are defined by the two nodes stage and harvest, corresponding, respectively, to $1200^\circ\text{C}\cdot\text{day}$ and $2600^\circ\text{C}\cdot\text{day}$.

Phenology description

The dynamics of the two selected VIs show relatively similar patterns (Fig. 5): VIs increased or stayed relatively constant from the start of the measurements at $1200^\circ\text{C}\cdot\text{day}$ to ~ 1600 to $2200^\circ\text{C}\cdot\text{day}$ called period 1 (P1). Then the VIs decreased during the senescence phase that is called period 2 (P2). Nitrogen level influences the rate of change during P1, the date (in $^\circ\text{C}\cdot\text{day}$) when the decrease started (T_{12}) and the rate of decrease during P2. Conversely, the effect of the density was very small (Fig. 5), with a generally higher VI value than for the higher density (d2).

MCARI2(0°) generally showed a strong response to nitrogen fertilisation due to canopy LAI variation, thus, GF (Fig. 5). The rate of increase during the first period (P1) was the highest for the lower nitrogen levels, whereas it plateaued for the N3 treatments. The plateau can be explained by some saturation reached for the higher LAI values. The decrease due to senescence started around $2000^\circ\text{C}\cdot\text{day}$, with quite similar rates. The end of senescence,

when MCARI2(0°) $\lambda \sim 0$ corresponding to the disappearance of all the green leaves (GF ~ 0) was delayed for the higher nitrogen level.

MTCI(57°) time course is fairly similar to that of MCARI2(0°). Period 2 started around 1700 – $1800^\circ\text{C}\cdot\text{day}$, i.e. much earlier than for MCARI2(0°) (Fig. 5). This stage corresponded approximately to the date of anthesis. The earlier decrease of MTCI(57°) may be explained by a decrease in leaf chlorophyll content. At the end of P2, when MCARI2(0°) ~ 0 , MTCI(57°) seems unreliable, with an increase for the low nitrogen levels (N1 and N2).

The different cultivars showed consistent time courses for each modality in agreement with what was previously observed on Soissons (Fig. 5). A more detailed inspection showed variations in the response to nitrogen stress. CapHorn always had a lower value than MCARI2(0°) in relation to its smaller vegetative development and more erect foliage inclination, whereas its MTCI(57°) values were the highest, indicating a higher chlorophyll content. Hysun had the highest MCARI2(0°) values while maintaining high MTCI(57°) values, indicative of the higher vigour of this hybrid cultivar. Durum wheat cultivar Biensur seemed to behave as the other cultivars under nitrogen stress (N1): responding lesser to high nitrogen levels it showed both smaller MCARI2(0°) and MTCI(57°) values, i.e. smaller leaf development and chlorophyll content.

Empirical modelling of the dynamics

As described earlier, the dynamics of the two VIs investigated shows similar general patterns that can be modelled by a simple bi-linear model:

$$\text{for } T \leq T_{12}, \quad VI(T) = \alpha_1(T - T_{12}) + VI(T_{12}), \quad (5)$$

$$\text{for } T \geq T_{12}, \quad VI(T) = \alpha_2(T - T_{12}) + VI(T_{12}), \quad (6)$$

where $VI(T)$ is the VI value at time T (in $^\circ\text{C}\cdot\text{day}$), α_1 and α_2 are the rate of change (slope) in the first and second periods, T_{12} the time (in $^\circ\text{C}\cdot\text{day}$) at the transition between periods 1 and 2, and $VI(T_{12})$ the VI value at T_{12} . To better describe the main pattern

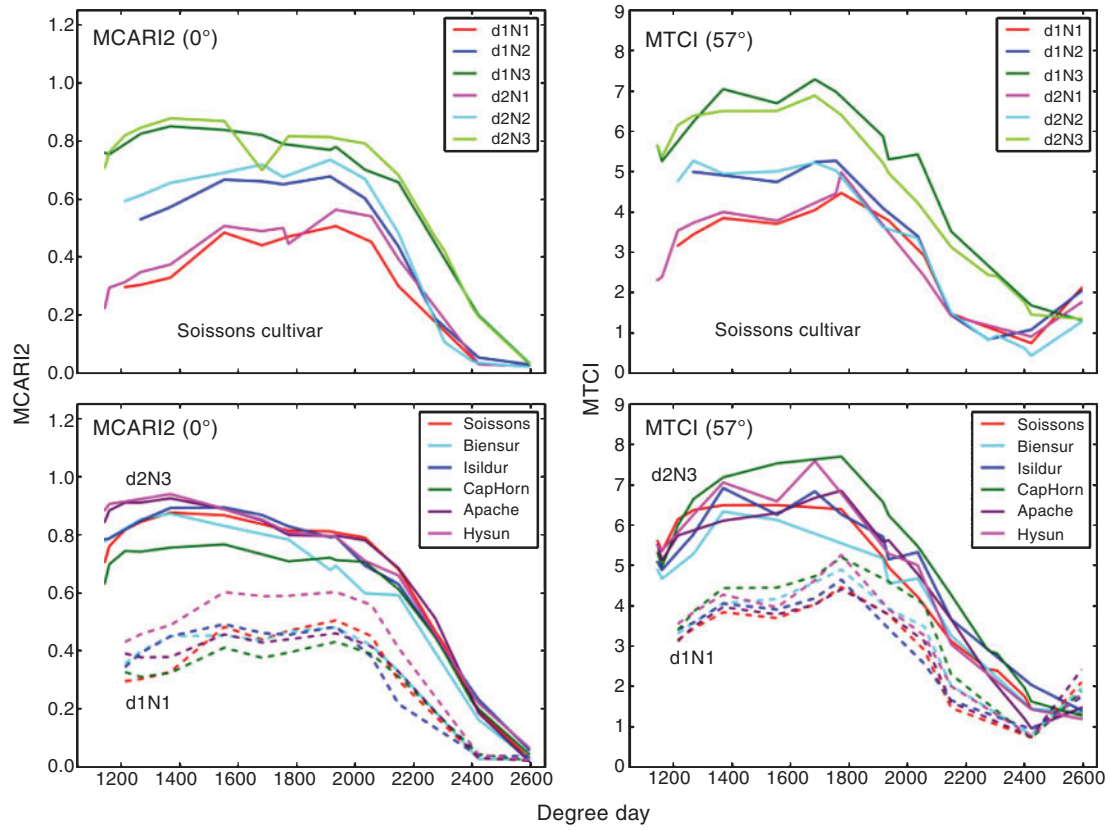


Fig. 5. Display of the dynamics of MCARI2(0°) (left plots) and MTCI(57°) (right plots) between 1200°C.day and 2600°C.day. The top plots exhibit the six modalities for Soissons cultivar; d_i is sowing density; N for nitrogen treatment. For example, d1N1 is the modality with the lowest density and N supply and on the contrary d2N3 is the modality where the density and N supply are the highest. The bottom plots exhibit the dynamics for the six cultivars in respect of the two most contrasted modalities: d1N1 (dashed line) and d2N3 (solid line).

and avoid problems at the beginning and at the end of the observation series, data acquired before 1200°C.day and after the end of senescence (when MCARI2 reaches value close to 0 and when MTCI start increasing again), were discarded. The four parameters of the model were adjusted for each plot by minimising a cost function (J) with the simplex algorithm (Nelder 1965):

$$J = \sum (VI_{\text{mes}} - VI_{\text{est}})^2, \quad (7)$$

where VI_{mes} and VI_{est} are, respectively, the measured and estimated values of the VI. Results showed that the model

describes faithfully the VI time course for all the VIs considered: RRMSE values were 3.0% for MCARI2(0°) and 3.7% for MTCI(57°). This simple bi-linear model was performing better than second degree polynomials (data not shown).

The parameters of the model were used in the following to capture specific traits of the cultivars based on the eight metrics shown in Table 1. These metrics are called high throughput metrics (HTM) and correspond to the four parameters of the model complemented by the thermal time at the end of period 2 (T_2 , °C.day), and the integrated values over periods P1 (I_1), P2 (I_2) and periods P1 and P2 ($I_1 + I_2$).

Table 1. The 8 metrics derived from the VI dynamics. These metrics computed for the 2 selected VIs correspond to HTMs used to characterise traits

Symbol	Definition	Unit
T_{12}	Time (°C.day) at transition between periods 1 and 2 (beginning of senescence)	°C.day
T_2	Time (°C.day) at end of period 2 (end of senescence)	°C.day
α_1	Rate of change during period 1 (vegetative period)	°C ⁻¹ .day ⁻¹
α_2	Rate of change during period 2 (senescence period)	°C ⁻¹ .day ⁻¹
$VI(T_{12})$	VI value at transition between periods 1 and 2 (beginning of senescence)	—
I_1	Integrated value over periods 1	°C.day
I_2	Integrated value over periods 2	°C.day
$I_1 + I_2$	Integrated value over periods 1 and 2	°C.day

Using VIs to identify specific traits

Information provided by the high throughput metrics (HTM) described in Table 1 will be compared with destructive measurements at harvest (DMH): the Yield (g m^{-2}), the total above ground dry matter (AGDM, g m^{-2}), the harvest index (HI, no units) computed as $\text{HI} = \text{Yield}/\text{AGDM}$, the amount of total nitrogen (QN_{total} , g m^{-2}) and in the grain (QN_{grain} , g m^{-2}), the fraction of nitrogen in the grain ($fN_{\text{grain}} = QN_{\text{grain}}/QN_{\text{total}}$) and finally the nitrogen content in the straw ($CN_{\text{straw}} = QN_{\text{straw}}/(\text{AGDM} - \text{Yield})$) and in the grain ($CN_{\text{grain}} = QN_{\text{grain}}/(\text{AGDM} - \text{Yield})$). A variance analysis was then completed to quantify the genetic control of these HTM traits as compared with the classical destructive measurements at harvest (DMH).

Relation between high throughput metrics and destructive measurements at harvest

The rank correlation (Spearman) between the DMHs and the HTMs was computed (Table 2). Results showed that HTMs derived from MCARI2(0°) were closely related to some of the DMHs with 78% of the 64 couples HTM/DMH having $P > 95\%$ and 39% with $P > 99.999\%$. The lowest correlations are observed for the harvest index (HI). The highest correlations with DMHs are observed for the integrated values, particularly for period P1 (I_1) and the total integral ($I_1 + I_2$) and for the MCARI2(0°) value observed at (T_{12}). The slope during period P1 (α_1) and the time at the end of senescence (T_2) were also closely related to DMHs, except with HI. Finally, the slope during P2 (α_2) and the time at the onset of senescence (T_{12}) were not well correlated with DMHs. This contradicts earlier results by Baret and Guyot (1986) and Boissard *et al.* (1989), who found significant relationships between crop yield and the rate of senescence. Further it does not agree with results from Gaju *et al.* (2011), which show a significant correlation between nitrogen use efficiency and the time of onset of senescence. Indeed, the maximum value of

the MCARI2 and thus the maximum LAI is more explicative of the integrated value that the timing of the senescence. The slopes α_1 and α_2 were generally negatively correlated with biomass and nitrogen amount: slow dynamics were more favourable under these experimental conditions. Delayed onset of senescence (T_{12}) and end of senescence (T_2) appear to be also favourable (positive correlation) with biomass and nitrogen accumulated at harvest.

MTCI(57°) derived HTMs are correlated with DMHs similarly to MCARI2(0°) with slightly weaker relationships (Table 2). The main difference with MCARI2(0°) HTMs is observed for (T_{12}) where correlations with DMHs are stronger and negative, except for HI and fN_{grain} . The nitrogen contents QN_{grain} and QN_{total} were significantly ($P > 99.000\%$) negatively correlated with T_{12} as derived from MTCI(57°): an earlier onset of period P2 corresponded to an increase of nitrogen amount (QN) and content (CN) at harvest.

Performances of high throughput metrics for trait identification

A variance analysis (ANOVA) implemented within the R statistical software package was used to quantify the respective effects between genotype and environment. The genotype factor (g) is represented by the cultivar, whereas the environment factor is represented by nitrogen (n) and density (d) modalities. The experience can be considered as a complete factorial design, where the 6 cultivars are combined with the three nitrogen levels and two densities in order to facilitate the ANOVA. However, the design was not fully randomised for practical reasons when setting up the experiment. The linear model used in the ANOVA with three factors: g (cultivar), n (nitrogen), d (density) and first order interactions α_{gn} , α_{gd} and α_{dn} written as:

$$\text{HTM} = \mu + g + n + d + \alpha_{gn} + \alpha_{gd} + \alpha_{dn} + \varepsilon \quad (8)$$

$$\text{DMH} = \mu + g + n + d + \alpha_{gn} + \alpha_{gd} + \alpha_{dn} + \varepsilon' \quad (9)$$

Table 2. Spearman correlation (or rank correlation) coefficients between destructive measurements at harvest (DMH) and high throughput metrics (HTM)

Correlation P -values are indicated: ***: $P > 99.999\%$; **: $99.999\% > P > 99.900\%$; *: $99.900\% > P > 95.000\%$; no star: $P < 95.000\%$

	T_{12}	T_2	α_1	α_2	$VI(T_{12})$	$I_1 + I_2$	I_1	I_2
<i>MCARI2(0°)</i>								
Yield	0.394*	0.586**	-0.614**	-0.495*	0.843***	0.899***	0.902***	0.75***
AGDM	-0.039	0.335*	-0.713***	-0.346*	0.859***	0.885***	0.819***	0.847***
HI	0.499*	0.301	0.151	-0.289	0.032	0.047	0.136	-0.106
QN_{grain}	0.286	0.56**	-0.696***	-0.426*	0.884***	0.941***	0.922***	0.83***
QN_{total}	0.23	0.547**	-0.73***	-0.396*	0.885***	0.943***	0.923***	0.853***
fN_{grain}	0.028	-0.482*	0.706***	0.001	-0.557**	-0.691***	-0.635**	-0.694***
CN_{grain}	0.134	0.548**	-0.684***	0.1	0.5*	0.638**	0.597**	0.631**
CN_{total}	0.403*	0.698***	-0.636**	-0.034	0.503*	0.638**	0.654***	0.541**
<i>MTCI(57°)</i>								
Yield	-0.47*	0.446*	-0.056	-0.247	0.796***	0.814***	0.756***	0.688***
AGDM	-0.463*	0.278	-0.412*	-0.141	0.589**	0.621**	0.59**	0.446*
HI	0.061	0.103	0.355*	-0.204	0.26	0.247	0.239	0.247
QN_{grain}	-0.541**	0.435*	-0.145	-0.238	0.834***	0.854***	0.77***	0.695***
QN_{total}	-0.59**	0.432*	-0.21	-0.197	0.808***	0.83***	0.731***	0.679***
fN_{grain}	0.444*	-0.455*	0.208	0.026	-0.53*	-0.551**	-0.468*	-0.461*
CN_{grain}	-0.502*	0.577**	-0.033	0.008	0.641**	0.638**	0.51*	0.582**
CN_{total}	-0.538**	0.573**	0.088	-0.126	0.812***	0.806***	0.629**	0.715***

where μ is the mean value and ϵ corresponds to the residual effect not explained either by the single factors or by the first order interactions. Results showed that, in most cases, only the interaction between genotype and nitrogen was significant. For this reason, the model was simplified by considering only the interaction between genotype and nitrogen, α_{gn} . The variance explained by the single factors is presented in Table 3 for DMHs and for HTM. The F -test of the genotype is a direct measure of the genetic control (broad sense heritability) of the trait.

The nitrogen factor explained most of the variability of the DMHs, except for the HI (Table 3). Indeed, the nitrogen fertilisation level drove the biomass production as well as nitrogen amount in the canopy. The genotype always explained a significant fraction of the total DMH variance, particularly for the HI (72.27%). The interaction between nitrogen and cultivar effects was significant for most DMHs, except for nitrogen concentration at harvest (CN_{total}). However, the fraction of variance explained is quite small (between 16 and 2%). The density factor was significant for total and grain biomass at harvest, although the variance explained was very low (<0.73%). The residuals were always low (1–8%), showing that the DMHs were well explained by the proposed model.

The residuals of HTMs model were generally much higher than those of the DMHs (Table 3): sources of variability unaccounted for by the model were present in the data. However, some HTM were highly heritable: the temperature T_{12} computed with MCARI2(0°) and corresponding to the onset of senescence appears the most heritable and could be associated to a ‘precocity’ trait. Note that all HTMs derived from MCARI2(0°) were associated with high nitrogen or genotype effects. The dominance of nitrogen effects for MCARI2(0°) integrated values is in good agreement with the strong correlations observed with DHMs related to biomass or nitrogen accumulation (Table 2). The integrated value for P2 (I_2) and the end of

period P2 (T_2) were not heritable, nor was the slope during P2 (α_2) except for MCARI2(0°): period P2 did not explain cultivar differences except for MCARI2(0°). More frequent observations during this period where the dynamics are rapid would improve the accuracy of HTMs with possible positive consequences on heritability assessment.

Discussion, conclusion and perspectives

Multispectral vegetation indices and RGB images obtained under two contrasted directional configurations provide complementary and useful information. The images yielded accurate estimates of the green fraction, which is a key canopy architecture variable. The spectral indices yielded information on both canopy architecture and leaf optical properties. The selected vegetation indices appear to be relatively insensitive to the illumination conditions experienced during the campaign. However, deeper investigation would be required to quantify the impact of changes in sun position and diffuse fraction. This would be mandatory in sensing configurations where the orientation of the row is either parallel, when the sun illuminates the soil between rows or perpendicular to the sun direction when oblique viewing will fall in the principal plane known to show strong directional features (Lucht and Roujean 2000).

Although very few destructive measurements were achieved during the growth cycle, the comparison between the green fraction measured by the cameras and the spectral indices enabled us to gain a better understanding of canopy structure effects on VIs. As expected, VIs were more sensitive to canopy structure when measured from nadir than oblique viewing perpendicular to the row direction. Conversely, VIs were expected to be more sensitive to leaf properties when observing the canopy from oblique directions. This explains

Table 3. Percentage of variance explained by the single factors (genotype, nitrogen and density) for the destructive measurements at harvest (DMH) and high throughput metrics (HTM)

Significance test P -values are indicated: ***, $P > 99.999\%$; **, $99.999\% > P > 99.900\%$; *, $99.900\% > P > 95.000\%$; no star: $P < 95.000\%$

DMH	HTM	g	N	d	α_{gn}	ϵ
HI		72.27***	5.27***	0.13	16.47*	5.87
	MCARI2(0°) T_{12}	66.34***	14.57***	1.28*	8.50*	9.31
	MCARI2(0°) α	44.61***	16.07***	5.42*	18.89*	15.02
	MTCI(57°) α_1	29.81***	44.21***	2.10*	8.50*	15.38
Yield		26.68***	68.68***	0.73*	2.87*	1.04
	MCARI2(0°) I_1	23.53***	63.27***	0.23*	9.06*	3.91
	MCARI2(0°) T_{12}	22.92***	59.24***	2.61*	11.52*	3.71
CN_{grain}		21.51***	73.69***	0.27	2.85*	1.68
fN_{grain}		19.98**	60.98*	0.00	11.30*	7.74
ADGM	MCARI2(0°) α_1	17.87**	70.66*	0.04	8.75*	2.68
		16.11***	77.22***	0.62*	3.97*	2.08
	MTCI(57°) I_1	14.43***	62.43***	0.91*	15.47*	6.75
	MTCI(57°) T_{12}	12.01***	81.85***	0.16*	3.44*	2.54
	MCARI2(0°) I_1	10.50***	82.77***	1.62*	2.95*	2.15
	MTCI(57°) $I_1 + I_2$	7.84***	86.62***	0.02*	2.54*	2.97
	MCARI2(0°) $I_1 + I_2$	7.39***	88.14***	1.32*	2.13*	1.03
		4.15**	92.99***	0.07	1.45	1.33
CN_{total}	—	4.15**	92.99***	0.07	1.45	1.33
QN_{grain}	—	2.28**	94.89***	0.12	2.07*	0.64
QN_{total}	—	1.38**	95.88***	0.07	2.14**	0.54

the selection of VIs used to better monitor structural (MCARI2(0°)) or leaf optical properties (MTCI(57°)). However, a better understanding of the relationship between leaf optical properties targeted indices and the actual content in chlorophyllian pigments is required.

This study demonstrated the benefit of monitoring the dynamics of the canopy. A simple model was proposed to describe the time course of the VIs. It showed relatively good performances for MCARI2(0°) and MTCI(57°). The onset of senescence always happens earlier for MTCI than MCARI2. This can be interpreted as two phases in the post-anthesis period. The first starts just after (1800°C.day) and is characterised by a slow and regular decrease of the MTCI, thus, the canopy chlorophyll content. The second starts later (around 2100°C.day), when MCARI2, thus, the green fraction quickly decreases. Usually, only the beginning of this second phase is estimated from visual assessment of the mean leaf senescence. Thus, the use of spectral indices offers a better understanding of this post-anthesis period.

The parameters of the simple bilinear dynamic model applied to the four VIs provide high throughput metrics (HTM) that were exploited within a variance analysis to evaluate the variance explained by the several factors including genotype, which provides a proxy of the heritability. Nitrogen modalities generally explained most of the variance in the HTMs similarly to what was observed with the classical destructive measurements. However, some HTMs were highly heritable, particularly those corresponding to period P1 and those derived from MCARI2(0°). The model provided an estimation of the time T_{12} , when the rate of change of the VIs with time starts to increase rapidly. This time may be associated with the onset of senescence, which varied with the VI considered. The time of onset of senescence, T_{12} , as derived from MCARI2(0°) dynamics was the more heritable trait. The rate of change in period P1, α_1 , also explained a significant percentage of the total variance. The lack of heritability of period P2 may be also partly due to the less accurate estimates of the corresponding parameters (T_{12} , α_2 and T_2). More frequent observations during the senescence period where the rate of change of VIs with time is at a maximum would improve the accuracy of estimates of HTMs related to period P2. A temporal sampling frequency around 100°C.day would probably be optimal. However, the experimental design was limited: few cultivars, no replicates and restricted randomisation. This obviously weakens the conclusions drawn from the variance analysis. This study may, thus, be seen mainly as an exercise showing the potentials of such techniques. It needs to be further evaluated over a larger number of cultivars, within a randomised experimental design.

High throughput capabilities are mandatory as the plot numbers involved in genetic studies are in the thousands. The ability of this semi-automatic prototype system based on active and passive measurements was demonstrated to provide relatively high throughput phenotyping observations. The system samples ~100 micro-plots per hour, thus, assuming 4–5 usable hours per day, one can expect to be able to sample around 1000 micro-plots within 3 days. It is possible to improve the throughput of our system by concurrently sampling two or more micro-plots by replicating the measurement system along the horizontal beam. Further improvement may consist of using a

fully automated unmanned vehicle that would sample the plots according to a predefined scheme. One could also make use of active sensing techniques insensitive to illumination conditions to achieve operation 24-hours a day.

The interpretation of the measurements here was mostly based on two selected VIs. Other VIs designed to be sensitive to other canopy characteristics could also be evaluated. However, the empirical nature of VIs limits the capacity to fully separate structural effects, which may be cultivar dependent, from leaf properties related to the content and balance between the several chlorophyllian pigments including chlorophyll *a* and *b*, carotenoids and xanthophylls. A more mechanistic approach based on realistic 3D representation of the canopy along with leaf optical properties model that would explicitly account for the individual effect of the chlorophyllian pigments would provide more accurate and physiologically meaningful HTMs. They could then be ingested into canopy functioning models to provide higher level HTMs, or dissected to identify and quantify traits associated to specific processes.

Acknowledgements

This study was part of PHENOBLE project supported by the Agence Nationale pour la Recherche (ANR). The first author was supported by a CIFRE grant cofounded by Arvalis Institut du Végétal and the Association Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT). F Daumard was supported by an INRA grant. Many thanks to A Gavaland (Head of Experimental Unit 802), D Campergue and J-F Liévin for boom set up and to L Lagarrigue who helped us acquire reliable data during the experiment.

References

- Babar MA, Reynolds MP, Van Ginkel M, Klatt AR, Raun WR, Stone ML (2006) Spectral reflectance to estimate genetic variation for in-season biomass, leaf chlorophyll, and canopy temperature in wheat. *Crop Science* **46**, 1046–1057. doi:10.2135/cropsci2005.0211
- Baret F, Guyot G (1986) Suivi de la maturation de couverts de ble par radiométrie dans les domaines visible et proche infrarouge. *Agronomie* **6**, 509–516. doi:10.1051/agro:19860602
- Baret F, Guyot G (1991) Potentials and limits of vegetation indices for LAI and APAR assessment. *Remote Sensing of Environment* **35**, 161–173. doi:10.1016/0034-4257(91)90009-U
- Baret F, De Solan B, Lopez-Lozano R, Ma K, Weiss M (2010) GAI estimates of row crops from downward looking digital photos taken perpendicular to rows at 57.5° zenith angle. Theoretical considerations based on 3D architecture models and application to wheat crops. *Agricultural and Forest Meteorology* **150**, 1393–1401. doi:10.1016/j.agrformet.2010.04.011
- Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Clark K, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW (2012) GenBank. *Nucleic Acids Research* **40**, D48–D53. doi:10.1093/nar/gkr1202
- Boissard P, Guerif M, Pointel JG, Guinot JP (1989) Application of SPOT data to wheat yield estimation. *Advances in Space Research* **9**, 143–154. doi:10.1016/0273-1177(89)90479-1
- Boyes DC, Zayed AM, Ascenzi R, McCaskill AJ, Hoffman NE, Davis KR, Gorlach J (2001) Growth stage-based phenotypic analysis of *Arabidopsis*: a model for high throughput functional genomics in plants. *The Plant Cell* **13**, 1499–1510.
- Clément A, Vigouroux B (2003) Unsupervised segmentation of scenes containing vegetation (Forsytia) and soil by hierarchical analysis of bi-dimensional histograms. *Pattern Recognition Letters* **24**, 1951–1957. doi:10.1016/S0167-8655(03)00034-5

- Dash J, Curran PJ (2004) The MERIS terrestrial chlorophyll index. *International Journal of Remote Sensing* **25**, 5403–5413. doi:[10.1080/0143116042000274015](https://doi.org/10.1080/0143116042000274015)
- Furbank RT, Tester M (2011) Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science* **16**, 635–644. doi:[10.1016/j.tplants.2011.09.005](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.09.005)
- Gaju O, Allard V, Martre P, Snape JW, Heumez E, LeGouis J, Moreau D, Bogard M, Griffiths S, Orford S, Hubbart S, Foulkes MJ (2011) Identification of traits to improve the nitrogen-use efficiency of wheat genotypes. *Field Crops Research* **123**, 139–152. doi:[10.1016/j.fcr.2011.05.010](https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.05.010)
- Haboudane D, Miller JR, Pattey E, Zarco-Tejada PJ, Strachan IB (2004) Hyperspectral vegetation indices and novel algorithms for predicting green LAI of crop canopies: modeling and validation in the context of precision agriculture. *Remote Sensing of Environment* **90**, 337–352. doi:[10.1016/j.rse.2003.12.013](https://doi.org/10.1016/j.rse.2003.12.013)
- Höpe A, Hauer KO (2010) Three dimensional appearance characterization of diffuse standard reflection materials. *Metrologia* **47**, 295. doi:[10.1088/0026-1394/47/3/021](https://doi.org/10.1088/0026-1394/47/3/021)
- Jones HG, Serraj R, Loveys BR, Xiong L, Wheaton A, Price AH (2009) Thermal infrared imaging of crop canopies for the remote diagnosis and quantification of plant responses to water stress in the field. *Functional Plant Biology* **36**, 978–989. doi:[10.1071/FP09123](https://doi.org/10.1071/FP09123)
- Lucht W, Roujean JL (2000) Considerations in the parametric modeling of BRDF and albedo from multiangular satellite sensor observations. *Remote Sensing Reviews* **18**, 343–379. doi:[10.1080/02757250009532395](https://doi.org/10.1080/02757250009532395)
- Mistele B, Schmidhalter U (2010) Tractor-based quadrilateral spectral reflectance measurements to detect biomass and total aerial nitrogen in winter wheat. *Agronomy Journal* **102**, 499–506. doi:[10.2134/agronj2009.0282](https://doi.org/10.2134/agronj2009.0282)
- Montes JM, Melchinger AE, Reif JC (2007) Novel throughput phenotyping platforms in plant genetic studies. *Trends in Plant Science* **12**, 433–436. doi:[10.1016/j.tplants.2007.08.006](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.08.006)
- Munns R, James RA, Sirault XRR, Furbank RT, Jones HG (2010) New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit. *Journal of Experimental Botany* **61**, 3499–3507. doi:[10.1093/jxb/erq199](https://doi.org/10.1093/jxb/erq199)
- Nelder JA, Mead R (1965) A simplex method for function minimization. *Computer Journal* **7**, 308–313. doi:[10.1093/comjnl/7.4.30](https://doi.org/10.1093/comjnl/7.4.30)
- Roujean JL, Leroy M, Deschamps PY (1992) A bidirectional reflectance model of the Earth's surface for the correction of remote sensing data. *Journal of Geophysical Research* **97**, 20455–20468. doi:[10.1029/92JD01411](https://doi.org/10.1029/92JD01411)
- Vincent L, Soille P (1991) Watersheds in digital spaces – an efficient algorithm based on immersion simulations. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* **13**, 583–598. doi:[10.1109/34.87344](https://doi.org/10.1109/34.87344)
- Winterhalter L, Mistele B, Jampatong S, Schmidhalter U (2011) High throughput phenotyping of canopy water mass and canopy temperature in well-watered and drought stressed tropical maize hybrids in the vegetative stage. *European Journal of Agronomy* **35**, 22–32. doi:[10.1016/j.eja.2011.03.004](https://doi.org/10.1016/j.eja.2011.03.004)



Wheat leaf bidirectional reflectance measurements: Description and quantification of the volume, specular and hot-spot scattering features

A. Comar^{a,c,*}, F. Baret^a, F. Viénot^b, L. Yan^a, B. de Solan^{a,c}

^a UMR EMMAH, Inra PACA, UAPV, Domaine Saint-Paul, Site Agroparc, 84914 Avignon, France

^b Muséum national d'histoire naturelle, CRCC (MNHN-CNRS-MCC), 36 rue Geoffroy Saint-Hilaire, 75005 Paris, France

^c ARVALIS, Institut du végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, 75116 Paris, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 July 2010

Received in revised form 14 January 2011

Accepted 14 January 2011

Available online xxxx

Keywords:

Wheat
BRF
BRDF
Hotspot
Specular
Volume scattering
Conoscope
Fourier optics

ABSTRACT

This study focuses on the directionality of wheat leaf reflectance as a function of leaf surface characteristics. Wheat leaf BRF measurements were completed under 45° zenith illumination angle in three visible broad spectral bands with a conoscope that provides very high angular resolution data over a large portion of the whole hemisphere, including around the illumination direction. The measurements show a clear anisotropy with a specular lobe in the forward scattering direction and a small but significant hotspot feature in the backward scattering direction. The BRF directional features further depend on the illumination orientation because of the leaf roughness created by longitudinal veins: the specular lobe was more pronounced when the illumination was perpendicular to the veins, while specular reflection was more spread over azimuths for longitudinal illumination. Moreover, a sharp hotspot feature was observed for transversal illumination where the apparent roughness is the largest. The scattering was tentatively decomposed into specular, hotspot and isotropic components. Results showed that the hotspot contribution to the directional hemispherical reflectance factor (DHRF) was marginal conversely to that of the specular component that ranges between 0.036 and 0.050 (absolute DHRF value). The specular component was almost the same in the three visible bands considered. The isotropic component originating from volume scattering was contributing the most to the DHRF and was depending on wavelength, ranging between 0.055 and 0.097 in absolute DHRF value. A simple model was proposed to estimate the volume scattering from the isotropic and the surface components. Consequences of these findings were drawn on the ability to estimate leaf biochemical composition independently from leaf surface scattering, as well as on the interpretation of remote sensing at the canopy level.

© 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

The description of leaf optical properties, i.e. reflectance, transmittance and absorptance is important for understanding several processes intervening within the functioning of the canopy (Terashima & Saeki, 1983). Hence, it may serve a wide range of environmental, ecological and agricultural related applications. Emphasis was mainly put on the capacity to estimate the leaf biochemical composition from the spectral variation of optical properties. This was illustrated by several studies over a range of scales, from the leaf (Fourty et al., 1996; Gitelson et al., 2003; Markwell et al., 1995), high throughput phenotyping issues (Mistele & Schmidhalter, 2008), up to remote sensing applications (Fourty & Baret, 1997; Fourty et al., 1996; Jacquemoud et al., 2009). However, very little attention has been paid to leaf directional properties that may induce problems in the retrieval of leaf biochemistry at the leaf and canopy levels, as well as

when exploiting the bidirectional reflectance distribution function (BRDF) to estimate canopy structural attributes such as Leaf Area Index (LAI). As a matter of fact, information on the biochemistry comes from the absorption by the constituents occurring within the leaf, whereas the anisotropy of leaf reflectance originates mainly from processes taking place at the leaf surface including specular reflection (Breece & Holmes, 1971; Grant et al., 1987), shadowing created by leaf roughness (Bousquet et al., 2005) and scattering by trichomes on leaves (Holmes & Keiller, 2002; Levizou et al., 2004). A number of solutions have been proposed to limit the variability due to leaf surface properties. They include specific measurement configurations such as using an integrating sphere under normal illumination providing directional hemispherical measurements and transmittance measurements (Fourty et al., 1996). Further, specific processing methods are proposed to be applied to the measurements (McClendon & Fukshansky, 1990; Rondeaux & Vanderbilt, 1993), exploiting the fact that most surface processes are mainly driven by surface structure and the refractive index of the surface material that varies little with wavelength in the visible and near infrared domains, leading to wavelength independent features (Saunderson,

* Corresponding author.

E-mail address: alexis.comar@etd.univ-avignon.fr (A. Comar).

1942). However approximations and difficulties in the implementation of these solutions prevent getting accurate and robust estimates of leaf biochemical composition across species, cultivars and environmental conditions.

At the canopy scale, very little attention has been paid to the impact of leaf scattering phase function on canopy reflectance, leaves being generally assumed Lambertian with no differences between faces. However, Chelle (2006) used a simple BRDF (Bi-directional Reflectance Distribution Function) model to evaluate whether the Lambertian assumption was leading to accurate simulations of light absorption in the canopy. He concluded that the effect was marginal, although these results may be highly impacted by the leaf BRDF model used that was not necessarily very realistic. More recently, (Stuckens et al., 2009) demonstrated that the leaf BRDF impacted significantly canopy reflectance over citrus crops with a magnitude that depend on directions and wavelengths, showing that the architecture of the canopy plays also an important role. Nevertheless, the lack of knowledge about leaf anisotropy was already pointed out as one of the main limiting factors in our capacity to accurately describe canopy BRDF (Lewis, 2007).

Bi-directional scattering distribution function (BSDF) allows characterizing the anisotropy of both leaf reflectance (BRDF) and transmittance (BTDF) of the two faces. The early work on leaf BRDF (Howard, 1969) shows a lobe of high reflectance in the forward scattering direction, with a larger magnitude for the larger zenith illumination angles. This is interpreted as resulting from the specular reflectance that was later modeled by Torrance and Sparrow (1967) assuming the leaf surface made of facets with a given distribution of their orientation. The model was later adapted by Bousquet et al. (2005) who included mutual masking created by leaf roughness. However, some leaves showing particular BRDF features such as cereals could not be faithfully modeled using these assumptions (Combes et al., 2007). Other authors have identified a hot-spot in the backscattering direction originating from the mutual shadowing of the surface roughness features (Howard, 1969).

Most experimental studies on leaf BSDF were done using a goniometer where the illumination source and/or the sensor are rotating around the leaf sample (Combes et al., 2007; Walter-Shea et al., 1989). However, these measurements take time with consequences on leaf state mainly because of the desiccation during the experiment (Brakke et al., 1989). Further, difficulties to sample the hot-spot direction because of self-shadowing between the source and the sensor and the increased footprint for the larger view zenith angles limit the angular range. Sarto et al. (1989) proposed an imaging sphere made of a reflective hemisphere that is imaged by a fish-eye camera. This alternative leaf BSDF technique is promising since measurements should be almost instantaneous and with a high angular sampling and resolution. However, this technology developed for specific industrial applications (Rykowski, 2008) has not yet been used for leaf BSDF measurements. Other communities have been very active in developing a new BRDF measurement technique based on Fourier optics. The resulting conoscope system (2004; Ged et al., 2010; Obein et al., 2001), allows unprecedented angular sampling both in terms of range and resolution while measurements are sufficiently rapid to maintain the leaf in good conditions during data acquisition. The objective of this study is to provide a detailed description of leaf BRDF in the visible domain over wheat leaves using the conoscope system. Wheat represents the most cultivated crop and several agriculture applications focusing either on precision farming or high throughput phenotyping exploit canopy reflectance measurements for characterizing structural traits such as leaf area index or leaf attributes including chlorophyll content. The measurements achieved aimed at better understanding the main processes governing wheat leaf BRDF and quantifying their contribution to the directional hemispherical reflectance or albedo.

2. Materials and methods

The conoscope EZ-Contrast80M designed by Eldim SA (www.eldim.fr) was used in this experiment. It is based on a Fourier optic lens (Bass, 1995; Saleh & Teich, 1991) that projects the angular distribution (θ_v, φ_v) of the reflected radiation onto a cooled Charge Coupled Device (CCD) matrix (Fig. 1). A regulated xenon arc light source with a collimated beam (solid angle $<10^{-4}$ sr) was passing through a diaphragm with 0.33 mm diameter aperture, corresponding to the size of the light spot on the leaf. The direction of the incident beam may be manipulated both in zenith and azimuth directions. However, the zenith illumination was fixed at $\theta_s = 45^\circ$ in this study, while the azimuth illumination was set either parallel to the leaf longitudinal direction ($\varphi_s = 0^\circ$) or transversally ($\varphi_s = 90^\circ$) (Fig. 2). The change between longitudinal to transversal illumination was achieved by rotating the leaf. The size of the illuminated spot on the leaf was slightly larger than the spot sampled by the Fourier optics. Radiance signal is recorded in all azimuth directions and with zenith angles up to 80° over a 400×400 CCD matrix. The signal is finally transformed into a 80×360 matrix corresponding to zenith view angles $0^\circ \leq \theta_v \leq 80^\circ$ and view azimuth $0^\circ \leq \varphi_v \leq 360^\circ$ by 1° step.

Five spectral filters mounted in front of the sensor matrix (Fig. 1) are combined to compute the XYZ tristimulus values (CIE 1931) used in vision related applications for which the conoscope was originally designed. Each tristimulus coordinate corresponds to the radiance measured in a broad band with a spectral sensitivity shown in Fig. 3. The XYZ coordinates correspond roughly to a Red, Green and Blue bands and we will use this last denomination along this study.

The signal corresponding to each element of the 80×360 matrix in a given band λ is proportional to the luminance of the target, $L(\theta_s, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda)$. The calibration coefficient $\alpha(\theta_s, \varphi_s)$ depends only on the illumination geometry, the conoscope being designed to provide repeatable values across the view geometries, i.e. valid for the whole 80×360 matrix. Further, for a given geometry, the calibration coefficient $\alpha(\theta_s, \varphi_s)$ was constant with time during the experiment since the light source and the sensor matrix were stabilized. An experience made using a light trap showed that under the illumination condition ($\theta_s = 45^\circ$) the stray light effects were found at the same level than instrumental noise or lower. According to this result, no correction of stray light was applied. A Labsphere Spectralon reference panel was used to transform the measured radiance values into bidirectional reflectance factor, $BRF(\theta_s, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda)$ the main physical quantity used in this study. Several studies reported that the Spectralon panels were not perfect Lambertian surfaces (Bruegge et al., 2001; Jackson et al., 1992), in agreement with our observations (Fig. 4). The manufacturer of the Spectralon panel provides the directional hemispherical reflectance factor for nadir ($\theta_s = 0^\circ$) illumination: $DHRF_{ref}(0^\circ, \lambda) = 0.991$ for λ corresponding to the 3 wavebands considered. Since our illumination configuration is different ($\theta_s = 45^\circ$) it was approximated that $DHRF_{ref}(45^\circ, \lambda) \approx DHRF_{ref}(0^\circ, \lambda)$, hence assuming that the absorption of the panel is about constant (and very small) up to $\theta_s = 45^\circ$. This was later confirmed by independent measurements made with a goniometer (results not shown for the sake of brevity). In these conditions, the BRF of the leaf is computed as:

$$BRF_{leaf}(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda) = 0.991 \frac{L_{leaf}(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda)}{\sum_{\varphi_v=0^\circ}^{360^\circ} \sum_{\theta_v=0^\circ}^{90^\circ} L_{ref}(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda) \sin(\theta_v) \cos(\theta_v)} \quad (1)$$

Where $L_{ref}(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda)$ and $L_{leaf}(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda)$ are the signals measured respectively on the leaf and on the reference panel. Because of the absence of measurements above 80° , the integration over the whole range of view zenith angles in Eq. (1) was computed assuming a linear variation with θ_s of the term $L_{ref}(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda) \sin(\theta_v) \cos(\theta_v)$ for $80^\circ < \theta_s < 90^\circ$, taking advantage of the properties

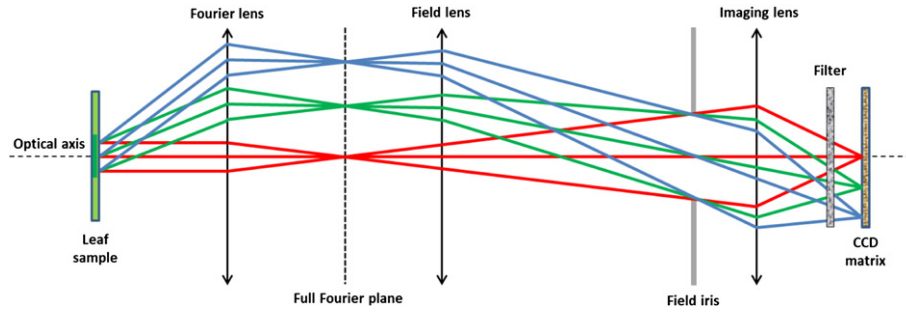


Fig. 1. Illustration of the principles of Fourier's optics device used in the experiment. Adapted from (Moreau et al., 2000) and Eldim's SA technical manuals (www.eldim.fr). Each colored ray corresponds to a specific reflection direction. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

of trigonometric functions: $\theta_v = 90^\circ \Rightarrow \cos(\theta_v) = 0$. The DHRF may be computed from the BRf values (Eq. (2)) using the same approximation for $80^\circ < \theta_s < 90^\circ$.

$$DHRF(45^\circ, \varphi_s, \lambda) = \frac{\sum_{\varphi_v=0}^{360^\circ} \sum_{\theta_v=0}^{90^\circ} BRf(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda) \sin(\theta_v) \cos(\theta_v)}{\sum_{\theta_v=0}^{90^\circ} \sin(\theta_v) \cos(\theta_v)} \quad (2)$$

Describing the directional variation of BRf is complex because it is a multidimensional problem: $BRf(\theta_s, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda)$ having 5 inputs. When fixing the illumination configuration to $(\theta_s^c, \varphi_s^c)$ and the waveband (λ), a 3D polar surface representation (Fig. 4a) provides an intuitive view of $BRf(\theta_s^c, \varphi_s^c, \theta_v, \varphi_v, \lambda)$. In this representation, a perfect Lambertian target should correspond to a hemisphere. Pseudo-3D isocontour lines and gray levels (Fig. 4b) provides a more quantitative view of $BRf(\theta_s^c, \varphi_s^c, \theta_v, \varphi_v, \lambda)$. The Lambertian target should correspond to a uniform gray level disc. Finally, 2D polar representation of cross sections along a given view azimuth (φ_v) (Fig. 4c) provides both an intuitive view and easy comparison between different view azimuth or other factors such as illumination azimuth (φ_s). A Lambertian target should correspond here to a perfect hemi-circle. Note that small variations were observed between the longitudinal and transversal measurements over the spectralon (Fig. 4c), probably due to some particular surface feature of our reference panel. However a very good consistency was observed for the DHRF of the spectralon panel for the 2 azimuthal directions. Consequently, this effect will not impact the accuracy of our calibration procedure since only the DHRF values are used (Eq. (2)).

Measurements were achieved over *Triticum durum* Isildur wheat cultivar. The plants from which the leaves were sampled were grown in pots in a green-house in good water and nitrogen conditions. Five leaves were collected from the top layers of the plant, selecting the ones that were the most healthy to provide an homogeneous sample. On each leaf, the measurements were replicated over

three different locations, making an overall sample size of 15 replicates. After the calibration phase that lasted around 10 min, each individual $BRf(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v, \lambda)$ measurement for the three wavebands took about half a minute to be completed. This means that a leaf stayed about 2 min in the system to complete the measurements at three different locations, minimizing possible changes due to heating or lighting in the system.

3. Results and discussion

The variability between the several replicates will first be investigated. Then, detailed description of the BRf directional variation will be presented. A decomposition of the BRf into surface (specular and hot-spot) and volume scattering will be proposed with contribution to the DHRF quantified.

3.1. Representativeness of measurements

The BRf directional patterns show a significant variability across the 15 (3 points over 5 leaves) replicates for a given illumination direction and the green waveband (Fig. 5). However, similar features may be observed in a given series of 15 measured BRfs. For both longitudinal ($\varphi_s = 0^\circ$) and transversal ($\varphi_s = 90^\circ$) illumination conditions, a symmetry with regard to the principal plane (the azimuthal plane containing the incident direction) is observed as expected (Fig. 4a). The variability between replicates of BRf measurements is mainly due to the small footprint (about 0.087 mm^2) as compared to the surface variability mostly created by the longitudinal veins (Fig. 6) with about 0.2 mm distance between two veins. For a few leaves, the BRf for the larger view zenith angles is very low (Fig. 5a, plot on the left and Fig. 5b, plot on the right). This is possibly due to the fact that the leaf was not always perfectly flat on the sample holder and that some reflected light escaped the Fourier lens for these large angles.

Exploiting the expected symmetry in the BRf with regard to the principal plane for each illumination direction (Fig. 5) allows

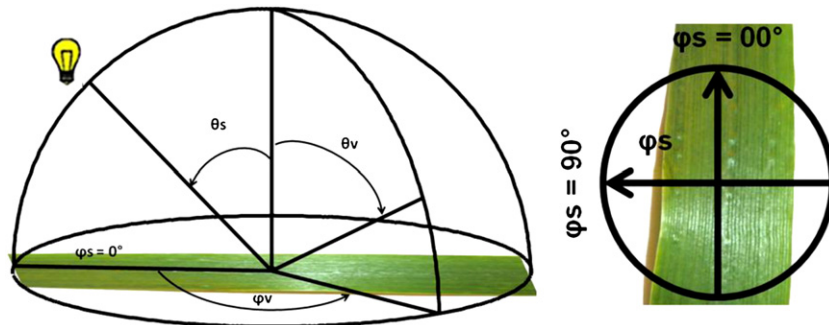


Fig. 2. The geometry of the observation. The azimuth angles φ_s and φ_v are relative to the orientation of the leaf veins in the longitudinal direction.

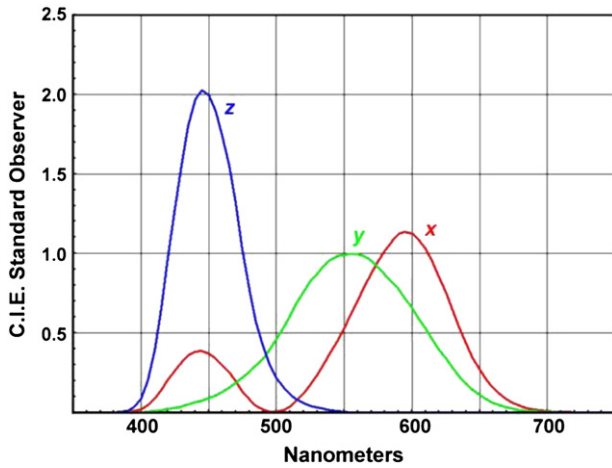


Fig. 3. Spectral sensitivity of the tristimulus coordinates XYZ (from CIE 1931) corresponding roughly to the red, green and blue wavebands. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

considering each side as a replicate. This improves the representativeness of the BRF by averaging over 30 samples. The Coefficient of Variation (CV) computed over the 30 replicates (Fig. 7) shows maximum values between 10% and 75% for the high view zenith angles ($70^\circ < \theta_v < 80^\circ$). This is due to three factors: (i) the specific design of the conoscope for which fewer photons are captured by the pixels of the CCD matrix for the larger view zenith angles, (ii) the possible shift from the focal plane where the sample should lay affects more the larger view zenith angles, and (iii) the fact that the CV increases mathematically when the BRF decreases as in the case of the larger view zenith angles. Note however that the absolute value of the uncertainty is still small. For view zenith angles $\theta_v < 70^\circ$, the CV increases (10%–50%) around the principal plane, due to the enhanced sensitivity of the specular scattering on the local roughness features. Outside these directions, the CV is around 10%–25%.

The average of all 30 replicates will be used. In the following, corresponding to a total surface sampled of 1.31 mm².

3.2. General BRF directional patterns and tentative decomposition

All BRF patterns show a very pronounced anisotropy, mainly characterized by a large increase of reflectance in the forward scattering direction corresponding to the specular reflection (Fig. 8). Other features are as well observed, in particular the hot-spot corresponding to the backscattering directions. The contribution to the BRF (and corresponding DHRF) of several scattering processes will be distinguished assuming that they are additive:

$$\begin{aligned} BRF_{tot} &= BRF_{spec+} + BRF_{spec-} + BRF_{hot} + BRF_{iso} \\ DHRF_{tot} &= DHRF_{spec+} + DHRF_{spec-} + DHRF_{hot} + DHRF_{iso} \end{aligned} \quad (3)$$

Where subscripts *spec+* and *spec-* correspond respectively the specular component in the forward or backward directions, *hot* corresponds the hot-spot component observed in the backscattering direction, *iso* is the isotropic component originating from the volume scattering and *tot* is the total leaf BRF or DHRF. This decomposition of the BRF into additive terms is very usual in semi-empirical approaches (Li & Strahler, 1985; Roujean et al., 1992). Note however, that this additive decomposition does not presume physical soundness, but provides a simple way to quantify the main features. In the following each of these components will be described with attention paid to the orientation of the leaf with regard to the illumination direction ($\varphi_s = 0^\circ$ or $\varphi_s = 90^\circ$). Since very similar features were observed over the three wavebands, results will be presented only for the green waveband.

3.2.1. Hotspot

The hotspot feature corresponds to the enhanced back-scattering observed over rough surfaces due to the limited shadow fraction seen by the sensor. Our measurements clearly show such features with a local maximum BRF value in the illumination direction (Fig. 9). This is in good agreement with previous observations (Howard, 1969) demonstrating that the roughness of the leaf creates a hotspot feature.

The hotspot feature was characterized by its extent and its magnitude. Extent was computed as the solid angle, Ω_{hot} centered on the

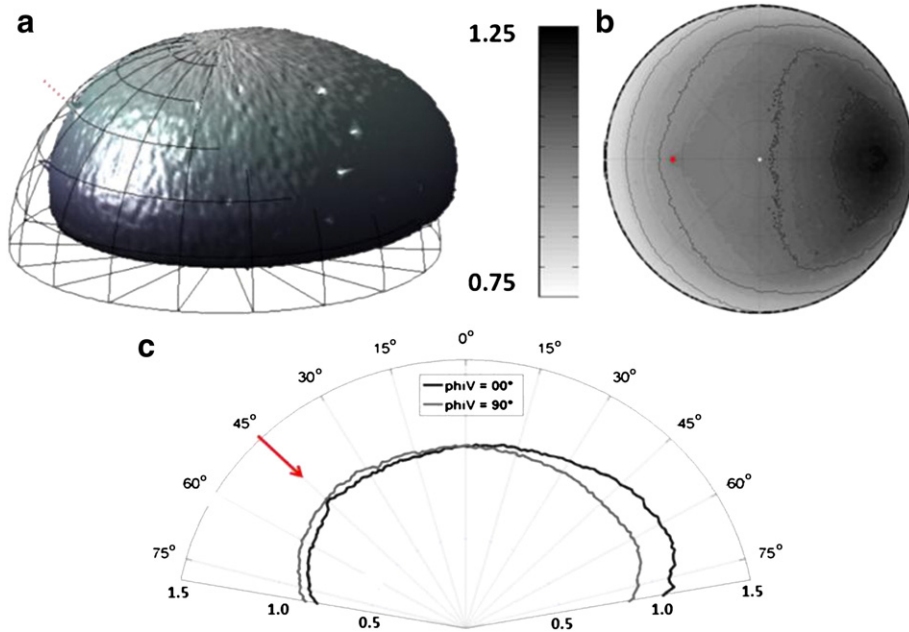


Fig. 4. Several representations of the BRF directional variation measured over the Labsphere spectralon under $\theta_s = 45^\circ$ and $\varphi_s = 0^\circ$ illumination condition for the green waveband. (a) 3D polar representation; (b) pseudo-3D isocontour polar representation with gray levels proportional to BRF values; (c) 2D polar representation of cross sections along $\varphi_v = 0^\circ$ and $\varphi_v = 90^\circ$ azimuthal planes. The illumination direction is represented by the red arrow (a, c) or red dot (b). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

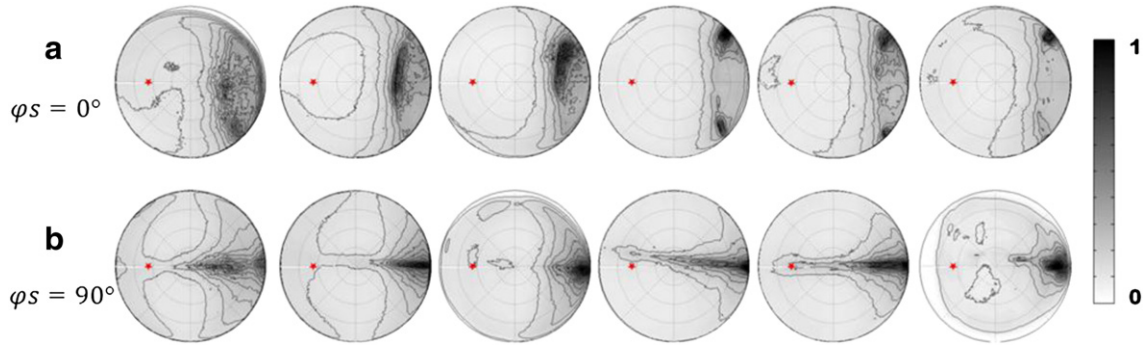


Fig. 5. Pseudo 3D isocontour polar representation of BRF measured over individual samples for 6 replicates. On top (a), longitudinal illumination ($\varphi_s = 0^\circ$). On bottom (b), transversal illumination ($\varphi_s = 90^\circ$). The green waveband is used here.

illumination direction for which the rate of variation of the BRF relative to the angular distance to the illumination direction is larger than 3% per degree. This threshold was empirically adjusted to retain most of the hot-spot feature while minimizing the contribution of the other surface scattering components characterized by lower local angular rate of variation. Results show that the hotspot angular extent are $\Omega_{hot} = 2.4 \cdot 10^{-3} \text{ sr}$ and $\Omega_{hot} = 8.6 \cdot 10^{-4} \text{ sr}$ respectively for longitudinal and transversal illumination directions (Table 1). The hotspot magnitude ($BRF_{hot}(45^\circ, \varphi_v, 45^\circ, \varphi_v, \lambda)$) and contribution of the $DHRF_{hot}(45^\circ, \varphi_v, \lambda)$ to the leaf $DHRF$ ($DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_v, \lambda)$) were then computed (Table 1) assuming that the sum of the other BRF components varies linearly with the view zenith and azimuth angles within the local hotspot angular extent (Ω_{hot}).

More detailed inspection of the hotspot feature shows differences between the two illumination directions (Table 1). For longitudinal illumination ($\varphi_s = 0^\circ$), the hotspot is very small in magnitude but with a significant angular extent, in relation to the limited apparent roughness along the direction parallel to the veins. Conversely, in the transversal illumination direction ($\varphi_s = 90^\circ$), the hotspot is much sharper, i.e. developed in magnitude but with a limited angular extent, in relation with the larger apparent roughness in the direction across the veins.

Although the hot-spot feature is significant locally in magnitude and extent (Fig. 9), it represents however a negligible contribution to the total hemisphere: the extent represents 0.04% of the total hemisphere and the contribution of the $DHRF_{hot}(45^\circ, \varphi_v, \lambda)$ is lower than 0.003% of the $DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_v, \lambda)$ (Table 1).

3.2.2. Specular reflection

The specular reflection creates the most prominent BRF feature, with a large increase of the BRF values in the forward scattering direction (Figs. 8 and 10). However, large differences are observed

between the two illumination directions. For longitudinal illumination ($\varphi_s = 0^\circ$), the specular lobe is widely spread over the azimuth from $-45^\circ < \varphi_v < 45^\circ$ and for zenith angles $\theta_v < 75^\circ$. In this broad specular lobe, the maximum BRF value is about constant and almost independent of φ_v with $BRF(45^\circ, 0^\circ, \theta_v^{maxBRF}, -45^\circ < \varphi_v < +45^\circ) \approx 0.342$ (Fig. 10a). The zenith locations of these maximum BRF values, θ_v^{maxBRF} , depend on the azimuth φ_v and is described by $\theta_v^{maxBRF}(\varphi_v) = 2.51 - 1.785 \cos(\varphi_v)$ where angles are expressed in degree, yielding a standard deviation of residuals of 0.002. This location of maximum BRF values is well described in Fig. 8 by the darkest area as outlined later. For transversal illumination, the specular lobe is more concentrated around the single maximum value $BRF(45^\circ, 90^\circ, 74^\circ \text{ and } 180^\circ) = 0.72$ (Fig. 10b). This specular lobe is still significant for nadir viewing but vanishes in the backward scattering direction (Fig. 10b). The BRF shows a significant ‘retro specular’ lobe for longitudinal illumination with values higher than 0.13 for view zenith angles ranging from 20° to 55° . Such ‘retro-specular’ lobe, distinct from the hot-spot feature, was already observed over fescue grass leaves having longitudinal veins creating an anisotropic roughness (Combes et al., 2007) as for the wheat investigated here. It is generated by the contribution of the facets having their normal pointing in the backward direction.

For longitudinal illumination, light may be scattered primarily by the flanks of the veins, explaining the large specular lobe. Conversely, for transversal illumination, light is primarily scattered close to the principal plane in directions depending on the local inclination of the surface.

3.2.3. Isotropic component

Because of the assumed additive nature of the several components (Eq. (3)), the isotropic component could be approximated by the

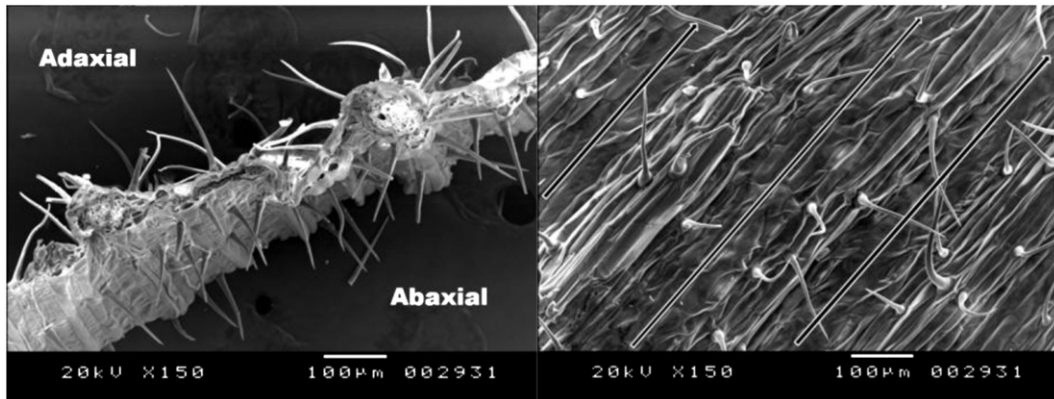


Fig. 6. Image obtained with a scanning electron microscope of a gold metalized *Triticum durum* cultivar leaf. On the left, a cross section of the leaf. On the right the adaxial leaf surface as seen from nadir. Black and white arrows are in-between the veins and oriented along the longitudinal axis of the leaf.

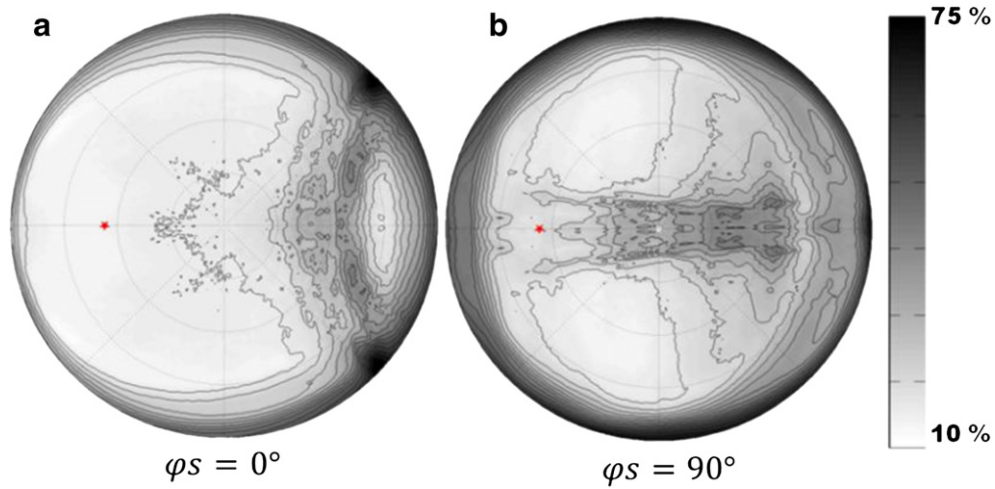


Fig. 7. Pseudo 3D isocontour of the Coefficient of Variation (in %) of the BRF values computed over the 30 replications for longitudinal (a) and transversal (b) illumination in the green band.

minimum BRF value where the other scattering components are minimal: $DHRF_{iso}(45^\circ, \varphi_s) \approx \min(BRF(45^\circ, \varphi_s, \theta_v, \varphi_v))$.

Rather than taking the minimum measured BRF value that could correspond to some noise, the isotropic component value was set to that corresponding to a low frequency threshold value in the BRF cumulated distribution (Fig. 11). The relatively flat distribution observed for the lower BRF values before the steep increase of the cumulated frequency (Fig. 11) indicates that the estimated isotropic value will be little sensitive to the threshold frequency f . As a matter of fact, $(BRF(f=10\%) - BRF(f=4\%)) < 0.004$. The threshold was therefore set to $f=5\%$, leading to $BRF_{iso}(45^\circ, 0^\circ) = 0.082$ and $BRF_{iso}(45^\circ, 90^\circ) = 0.095$ for the isotropic component values.

The lowest BRF values are observed for the larger view zenith angles for transversal illumination (Fig. 12). However, these large view zenith angles are associated to higher noise levels and possible

artifacts as discussed earlier. The directions $[\theta_v, \varphi_v]$ where the minimum BRF values are observed and with $\theta_v > 70^\circ$ depend on the illumination conditions: for longitudinal illumination, the minimum BRF values are located at $10^\circ < \theta_v < 30^\circ$ with $-45^\circ < \varphi_v < 45^\circ$ (Fig. 12a) with $BRF_{iso}(45^\circ, 0^\circ, -, -) = DHRF_{iso}(45^\circ, 0^\circ) \approx 0.082$; for transversal illumination, the minimum values are located at $30^\circ < \theta_v < 50^\circ$ with $(-40^\circ < \varphi_v < 10^\circ)$ (Fig. 12b) with $BRF_{iso}(45^\circ, 90^\circ, -, -) = DHRF_{iso}(45^\circ, 90^\circ) \approx 0.095$.

3.3. Spectral variation of BRF and DHRF

After focusing on the BRF features of the green waveband, the spectral dependency of the scattering components of the DHRF will be investigated. However, since the hotspot contribution to the DHRF was demonstrated to be very small, it will be neglected here

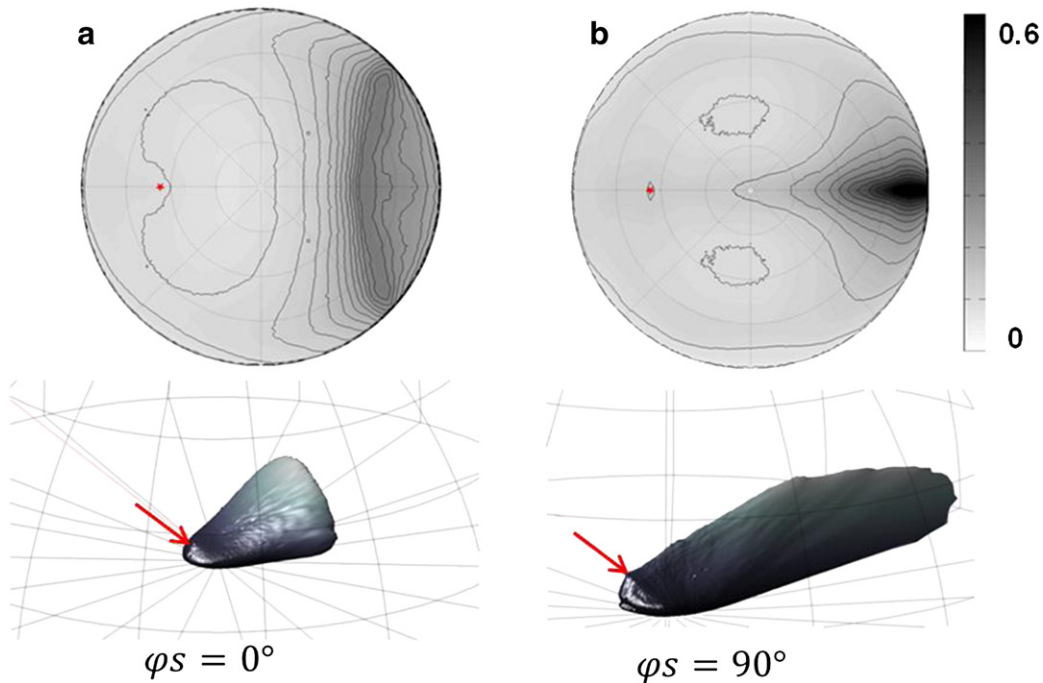


Fig. 8. Directional variation of the BRF in the green waveband of the wheat leaf for longitudinal (a) and transversal (b) illumination direction. The pseudo-3D isocontour polar plot with a gray scale (top) and the 3D polar (bottom) representations are displayed. The red arrow corresponds to the illumination direction. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

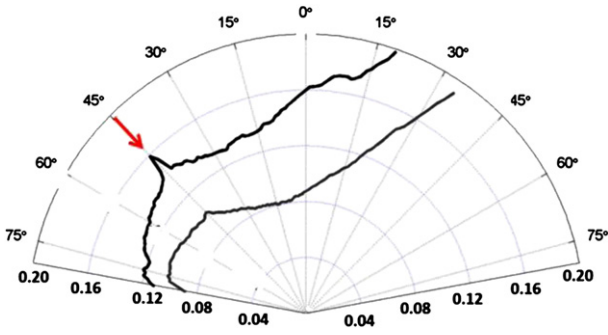


Fig. 9. BRF directional variation with 2D polar representation in the principal plane ($\varphi_v = [0^\circ, 180^\circ]$) with emphasis on the illumination direction (red arrow) for longitudinal ($\varphi_s = 0^\circ$) in gray and transversal ($\varphi_s = 90^\circ$) in black illumination. The green waveband is used here. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

and emphasis will be put on of the specular and isotropic components. Finally, the isotropic component will be tentatively related to the volume scattering.

3.3.1. Quantification of DHRF components and their spectral dependency

The several DHRF components were computed from the BRF measurements using Eq. (3) and the approximation of the isotropic component as defined by the minimum BRF values. Results show that the surface scattering ($DHRF_{surf} = DHRF_{spec+} + DHRF_{spec-}$) does not depend on wavelength, with $DHRF_{surf}(45^\circ, 0^\circ) = 0.048$ and $DHRF_{surf}(45^\circ, 90^\circ) = 0.037$ respectively for longitudinal and transversal illuminations, representing respectively 42% and 31% of the leaf $DHRF_{tot}$ (Table 2 and Fig. 13). This expected result is in good agreement with those of Bousquet et al. (2005). The independency of the specular component with wavelength comes from the small change of the spectral refraction index that drives specular reflection in the visible wavelength. The forward-specular component is dominant with 92% (longitudinal) and 84% (transversal) of the total surface component. The retro-specular component represents thus only a small fraction of the total specular scattering with 8% (longitudinal) and 16% (transversal) of the surface scattering component. The oriented roughness of the leaf surface explains these differences: more facets are illuminated under grazing angles in the longitudinal illumination, generating a very broad specular component. Conversely, for transversal illumination, a lower fraction of facets are illuminated under such conditions, mainly concentrated on the top of the veins and creating a strong but sharp specular lobe as described previously. Further, for transversal illumination, a significant number of facets oriented 'backwards' induces the larger retro-specular component than in the longitudinal illumination case.

The isotropic component varies both with wavelength and with the illumination direction (Table 2 and Fig. 13). It shows a maximum in the green while blue and red components are significantly lower. This spectral pattern is easily explained by the fact that the isotropic component originates from the volume scattering mainly driven by chlorophyll absorption. A smaller isotropic component is observed

Table 1

Characteristics of the hot-spot feature for longitudinal ($\varphi_s = 0^\circ$) and transversal illumination ($\varphi_s = 90^\circ$) in the green waveband.

	$\varphi_s = 0^\circ$	$\varphi_s = 90^\circ$
Magnitude: $BRF_{hot}(45^\circ, 0^\circ, 45^\circ, \varphi_v, \lambda)$	0.0046	0.0113
Extent: Ω_{hot} in steradians	0.0024	0.00086
$DHRF_{hot}$	1.7×10^{-6}	3.4×10^{-6}
$DHRF_{hot}/DHRF_{tot}$ (%)	0.0013	0.0026

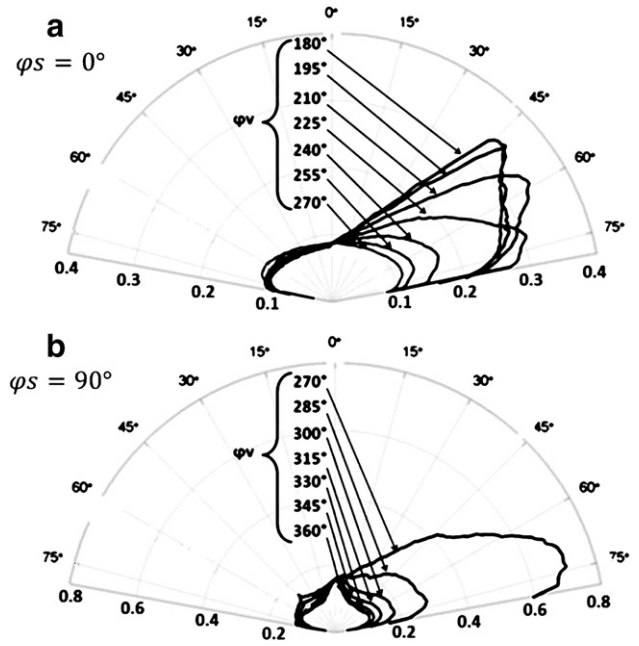


Fig. 10. BRF directional variation with 2D polar representation in a range of view azimuthal (φ_v) planes and for the green waveband and for longitudinal (a) and transversal (b) illumination directions. Note that the BRF scale was adapted for each illumination direction.

for longitudinal illumination as compared to the transversal case, compensating almost exactly the difference in surface scattering and resulting eventually in equal hemispherical reflectance: $DHRF_{tot}(45^\circ, 0^\circ, \lambda) \approx DHRF_{tot}(45^\circ, 90^\circ, \lambda)$. The enhanced isotropic component experienced under transversal illumination may be explained by the more light available for volume scattering because of the higher transmittance of the surface due to the lower directional hemispherical reflectance: $(DHRF_{surf}(45^\circ, 0^\circ, -) - DHRF_{surf}(45^\circ, 90^\circ, -))/DHRF_{surf}(45^\circ, 0^\circ, -) = 30\%$. The mechanism that links the isotropic component to the volume scattering will be further explained in the following section.

3.3.2. From the isotropic to the volume scattering

The isotropic component is assumed to originate from the scattering within the leaf volume. As a matter of fact, multiple scattering within the leaf will provide more randomness in the direction of the scattered radiation resulting in more isotropic reflected and transmitted fluxes. This was confirmed by the several studies reporting relatively isotropic transmittance of leaves (Breece & Holmes, 1971; Greinier et al., 2007; Sanz et al., 1997). This is also partly justified by the relatively isotropic leaf reflectance in the near infrared domain (Greinier et al., 2007) where volume scattering is dominant because of the very small absorption experienced within the leaf. Under these assumptions, the total leaf DHRF can be computed considering hemispheric fluxes interacting with the leaf surface as sketched in Fig. 14:

$$DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_s, \lambda) = DHRF_{surf}(45^\circ, \varphi_s) + \frac{(1 - BHRF_{surf}^{in})}{(1 - BHRF_{surf}^{in} \cdot BHRF_{vol}(\lambda))} (1 - DHRF_{surf}(45^\circ, \varphi_s)) BHRF_{vol}(\lambda) \quad (4)$$

Where $DHRF_{surf}(45^\circ, \varphi_s)$ corresponds to the surface component originating mainly from the specular reflection, $BHRF_{vol}(\lambda)$ is the bi-hemispherical reflectance factor originating from volume scattering, $BHRF_{surf}^{in}$ corresponds to the bi-hemispherical reflectance factor due

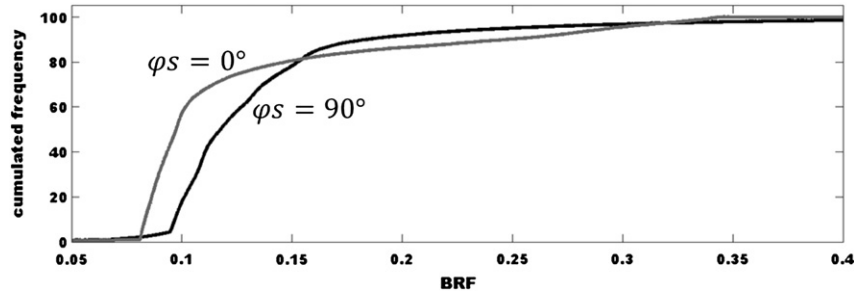


Fig. 11. Cumulated frequency of BRF values computed for longitudinal ($\varphi_s = 0^\circ$, in gray) and transversal ($\varphi_s = 90^\circ$ in black) illumination directions and the green waveband.

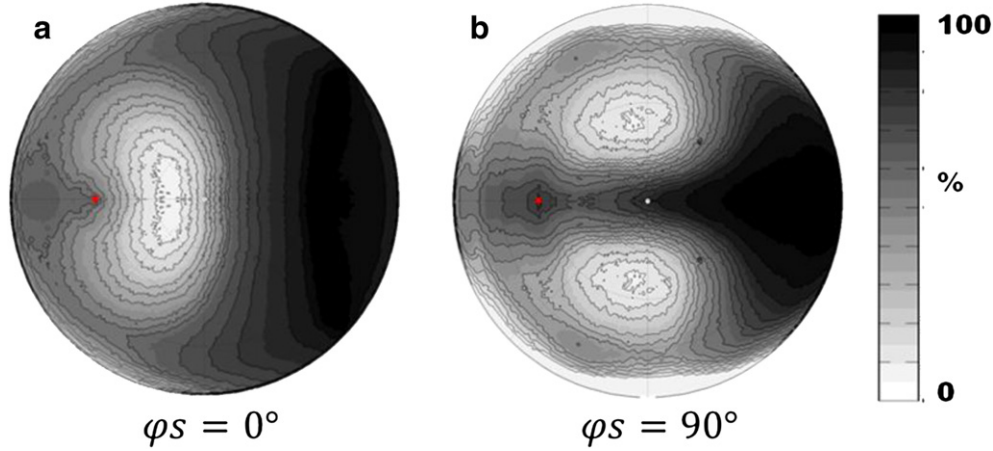


Fig. 12. Pseudo 3D isocontour polar representation of the cumulated frequencies corresponding to the BRF values for longitudinal (a) and transversal (b) illumination directions in the green waveband.

to scattering at the interface between the leaf volume and the leaf inner surface. It is assumed wavelength independent because it depends mainly on the refraction index and on the surface roughness. Further, the same value of $BHRF_{surf}^{in}$ is assumed for the two illumination conditions since isotropic fluxes are considered after the first interaction of the incident light with the surface. The term $(1 - DHRF_{surf}(\theta_s, \varphi_s))$ in Eq. (4), corresponds to the hemispherical transmittance of the surface for the directional incident radiation, $(1 - BHRF_{surf}^{in})$ to the hemispherical transmittance for the upward hemispherical flux originating from the volume scattering, and the term $\frac{1}{1 - BHRF_{surf}^{in} \cdot BHRF_{vol}(\lambda)}$ accounts for multiple scattering between the leaf volume and the surface. Note that this term is actually very close to 0.999 in our case, i.e. multiple scattering is negligible between the surface layer and the leaf volume (Fig. 14).

Values of $BHRF_{surf}^{in}$ and $BHRF_{vol}(\lambda)$ were estimated by minimizing a cost function using the simplex algorithm (Nelder & Mead, 1965). The cost function, J , is computed over the two illumination conditions and the three wavebands as the quadratic sum of the differences between

the measured $DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_s, \lambda)$ and the estimated value $DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_s, \lambda)$ using Eq. (4):

$$J = \sum_{\varphi_s = [0^\circ, 90^\circ]} \sum_{\lambda = [Blue, Green, Red]} (DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_s, \lambda) - DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_s, \lambda))^2 \quad (5)$$

Where $\lambda = [Blue, Green, Red]$ corresponds to the three wavebands considered. Results show that the estimated values of $DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_s, \lambda)$ are very close to the actual ones, with $RMSE = 0.006$ (Fig. 15). However, a slight overestimation (underestimation) is observed for longitudinal (respectively transversal) illumination. This may result from the several assumptions used, with probably an important contribution to the assumed isotropy of the volume scattering and the approximation of $DHRF_{iso}$ as the minimum value of the measured BRDF. The retrieved volume component, $BHRF_{vol}$, are respectively 0.065, 0.095 and 0.075 for the blue, green and red wavebands. The retrieved value of the reflectivity

Table 2

DHRF scattering components. The backward specular one ($DHRF_{spec-}$) includes the hotspot which is however negligible.

	$\varphi_s = 0^\circ$				$\varphi_s = 90^\circ$			
	Red	Green	Blue	Average	Red	Green	Blue	Average
$DHRF_{spec+}$	0.042	0.045	0.045	0.044 (38.2%)	0.030	0.031	0.031	0.031 (26.0%)
$DHRF_{spec-}$	0.004	0.004	0.005	0.004 (3.8%)	0.006	0.006	0.006	0.006 (5.1%)
$DHRF_{surf}$	0.046	0.048	0.050	0.048 (41.6%)	0.036	0.037	0.038	0.037 (31.4%)
$DHRF_{iso}$	0.064	0.082	0.055	0.067 (58.1%)	0.078	0.097	0.068	0.081 (68.6%)
$DHRF_{tot}$	0.110	0.131	0.105	0.115 (100%)	0.114	0.134	0.106	0.118 (100%)

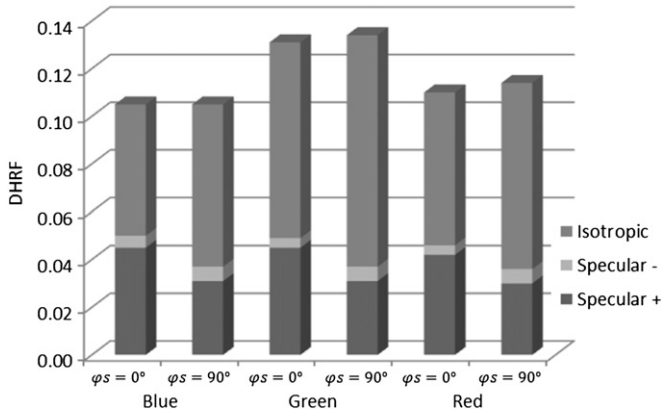


Fig. 13. The DHRF components (Eq. (3)) as a function of the wavebands and illumination directions. The hotspot contribution is here neglected. The data correspond to Table 2.

of the inner surface is $BHRF_{surf}^{in} = 0.013$, which is about 3 to 4 times lower than the $DHRF_{surf}(45^\circ, \varphi_s)$.

However, the simple model corresponding to Eq. (4) does not allow to explain the fact that almost the same total leaf $DHRF_{tot}$ was observed for the two illumination conditions. A first order approximation (i.e. neglecting multiple scattering term between the surface layer and the leaf volume) of the difference $\Delta DHRF_{tot}$ created by a difference in surface reflectivity, $\Delta DHRF_{surf}$, writes: $\Delta DHRF_{tot} = \alpha \Delta DHRF_{surf}$, with $\alpha \approx (1 - BHRF_{vol})(1 - BHRF_{surf}^{in})$. This factor varies between $0.92 < \alpha < 0.89$ when using the $BHRF_{vol}$ and $BHRF_{surf}^{in}$ values estimated for the wavebands considered. This shows that the simple model proposed does not allow to explain the almost insensitivity of $DHRF_{tot}$ to $DHRF_{surf}$, i.e. $\alpha \approx 0$. It is probable that the assumption on the independency of $BHRF_{vol}$ to $BHRF_{surf}$ is not realistic along with the other assumptions already discussed above.

4. Conclusions and perspectives

This paper presents a unique set of BRF measurements over wheat leaves with an unprecedented angular resolution and sampling for the direction of observations. The data are available on EMMAH laboratory website at the following webpage: http://www4.paca.inra.fr/emmah_eng/Production-Dokumentation/Database-Satellite-products/Databases/LeafBRDF. Results obtained under a 45° zenith incidence angle demonstrated that wheat leaf reflectance is highly anisotropic, with a strong forward scattering corresponding to a specular lobe. The leaf surface roughness created by the longitudinal parallel veins explained very well the variation of the directional scattering features including a small but significant hotspot. The longitudinal and transversal illumination directions experienced show very contrasted BRF

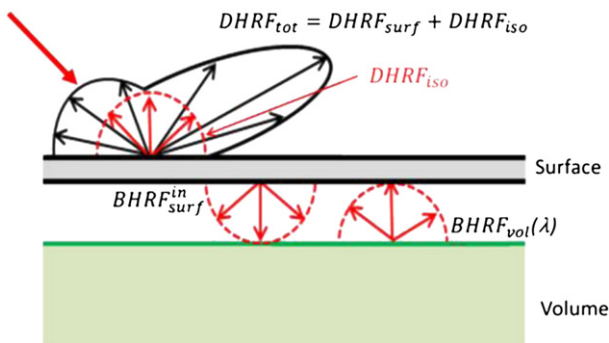


Fig. 14. Schematic representation of the model used to compute the leaf total DHRF ($DHRF_{tot}$) from the surface scattering $BHRF_{surf}$, the volume scattering $BHRF_{vol}$ and the epidermis BHRF ($BHRF_{surf}^{in}$).

patterns. In these conditions, models assuming the surface made of elementary facets with normal orientation characterized by a given distribution law for the zenith angles and uniformly distributed azimuth such as proposed by Bousquet et al. (2005), will not be able to simulate realistically the wheat leaf BRF.

The whole BRF was integrated over the view directions to compute the DHRF that was tentatively split into a specular, a hotspot and an isotropic component. While the contribution of the hotspot to the total DHRF was negligible, the specular feature was representing about 30% in the forward scattering and around 5% in the backward scattering. The specular contribution was found to be mainly independent from the wavelength as expected. The isotropic component was therefore contributing the more to leaf scattering with about 65% of the leaf DHRF. This isotropic component was wavelength dependent as expected since it originates from the scattering within the leaf volume where absorption occurs. The DHRF was almost independent on the illumination azimuth conversely to the important differences observed on the BRF between longitudinal and transversal illumination. This property might be exploited to access leaf biochemistry from reflectance measurements by minimizing leaf orientation effects within a leaf clip system. It might be achieved either by using an integrating sphere or by deriving the DHRF from a sample of BRF measurements in few well selected directions.

A simple model was proposed to estimate the volume scattering from the isotropic component, taking into account the transmittance of the surface. However, the assumptions made need to be verified, including those relative to the isotropy of the volume scattering and the approximation of a negligible surface contribution where the total BRF is minimum. This model does not explain the fact that the total DHRF of the leaf was almost the same for the two illumination directions despite the differences observed in the surface DHRF between the two illumination directions. A more physically based model that explicitly accounts for the surface roughness of the leaf, its anisotropy and its coupling with the leaf volume needs therefore to be developed. Such model would allow better quantifying the factors that drive the variability of the BSDF between cultivars and environmental conditions, with possible application on the identification of stresses as well as characterization of functional traits for plant phenotyping. Additionally, differences between species are likely to be very important. The proposed physical model should therefore

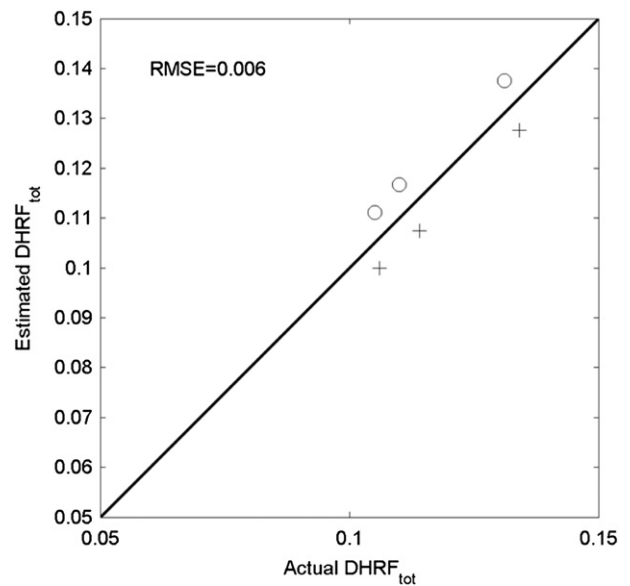


Fig. 15. Comparison between the actual $DHRF_{tot}(45^\circ, \varphi_s, \lambda)$ as computed from measurements according to Eq. (3), and the estimated values with the adjusted $BHRF_{surf}^{in}$ and $BHRF_{vol}$ values. The solid line corresponds to the 1:1 line, the 'o' to longitudinal illumination and '+' to transversal illumination.

have the capability to describe the BSDF over very different leaf types, with variability in surface aspect as well as mesophyll structure and distribution of absorbers such as chlorophyll.

The measurements made in this study were achieved on a single cultivar of wheat, in few visible broad bands and under a unique incident zenithal direction. They are therefore too limited to calibrate or validate a physically based BSDF model. Although there are no technical problems to extend these measurements to few other bands, especially in the near infrared where the mesophyll structure is expected to play an important role (Slaton et al., 2001) as well as to other incidence directions, this requires significant efforts that need to be pursued. Further, transmittance measurements would be also very useful since it would probably reveal some anisotropy as already observed by (Brakke et al., 1989; Breece & Holmes, 1971; Greinier et al., 2007; Sanz et al., 1997). The understanding of the surface contribution is a very important issue that would allow accessing more accurately the volume scattering that provides the information requested for estimating the biochemical leaf composition.

The knowledge of the leaf BSDF is potentially important for the modeling of canopy light regime. However, the consequences of leaf anisotropy on canopy level radiative quantities are not clear because of the variability of leaf orientation within a canopy, both in zenith and azimuth. Detailed simulations of canopy BRDF made with radiative transfer models with several assumptions on leaf BSDF and canopy structure (leaf area index, leaf orientation ...) should be completed.

Acknowledgments

This study was part of the 'SURFEUILLE' project supported by the French National Remote Sensing Programme. The first author was supported by a CIFRE grant cofounded by Arvalis Institut du végétal and the Agence Nationale pour la Recherche (ANR). Many thanks to Gwenaëlle Barilliet who have grown the wheat plants as well as to Oulfa Belhadj-Khlaifi who helped us acquire reliable MEB pictures.

References

- Bass, M. (1995). The Optical Society of America: Handbook of Optics. (2nd ed). Chapter 17: Microscope: Orthoscopic vs. Conoscopic Imaging, Vol 2, New York: McGraw-Hill.
- Bousquet, L., Lacherade, S., Jacquemoud, S., & Moya, I. (2005). Leaf BRDF measurements and model for specular and diffuse components differentiation. *Remote Sensing of Environment*, 98, 201.
- Brakke, T. W., Smith, J. A., & Harnden, J. M. (1989). Bidirectional scattering of light from tree leaves. *Remote Sensing of Environment*, 29, 175–183.
- Breece, H. T., & Holmes, R. A. (1971). Bidirectional scattering characteristics of healthy green soybeans and corn leaves in vivo. *Applied Optics*, 10, 119–127.
- Bruegge, C., Chrien, N., & Haner, D. (2001). A spectralon BRF data base for MISR calibration applications. *Remote Sensing of Environment*, 76, 354–366.
- Chelle, M. (2006). Could plant leaves be treated as Lambertian surfaces in dense crop canopies to estimate light absorption? *Ecological Modelling*, 198, 219–228.
- Combes, D., Bousquet, L., Jacquemoud, S., Sinoquet, H., Varlet-Grancher, C., & Moya, I. (2007). A new spectrogoniophotometer to measure leaf spectral and directional optical properties. *Remote Sensing of Environment*, 109, 107–117.
- Fourty, T., & Baret, F. (1997). Vegetation water and dry matter contents estimated from top of the atmosphere reflectance data: a simulation study. *Remote Sensing of Environment*, 61, 34–45.
- Fourty, T., Baret, F., Jacquemoud, S., Schmuck, G., & Verdebout, J. (1996). Leaf optical properties with explicit description of its biochemical composition: direct and inverse problems. *Remote Sensing of Environment*, 56, 104–117.
- Ged, G., Obein, G., Silvestri, Z., Le Rohellec, J., & Viénot, F. (2010). Recognizing real materials from their glossy appearance. *Journal of Vision*, 10.
- Gitelson, A. A., Gritz, Y., & Merzlyak, M. N. (2003). Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160, 271–282.
- Grant, L., Daughtry, C. S. T., & Vanderbilt, V. C. (1987). Variations in the polarized leaf reflectance of sorghum bicolor. *Remote Sensing of Environment*, 21, 333–339.
- Greinier, M. A., Duncan, B. D., & Dierking, M. P. (2007). Bidirectional scattering distribution functions of maple and cottonwood leaves. *Applied Optics*, 46, 6485–6494.
- Holmes, M. G., & Keiller, D. R. (2002). Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: a comparison of a range of species. *Plant, Cell & Environment*, 25, 85–93.
- Howard, J. A. (1969). Increased luminance in the direction of reflex reflection – a recently observed natural phenomenon. *Nature*, 224, 1102–1103.
- Jackson, R. D., Clarke, T. R., & Moran, S. (1992). Bidirectional calibration results for 11 spectralon and 16 BaSO₄ reference panels. *Remote Sensing of Environment*, 40, 231–239.
- Jacquemoud, S., Verhoef, W., Baret, F., Bacour, C., Zarco-Tejada, P. J., Asner, G. P., et al. (2009). PROSPECT + SAIL models: a review of use for vegetation characterization. *Remote Sensing of Environment*, 113, S56–S66.
- Levizou, E., Drilias, P., Psaras, G. K., & Manetas, Y. (2004). Nondestructive assessment of leaf chemistry and physiology through spectral reflectance measurements may be misleading when changes in trichome density co-occur. *New Phytologist*, 165, 463–472.
- Lewis, P. (2007). *3D canopy modelling as a tool in remote-sensing research*. Dordrecht: Springer.
- Li, X., & Strahler, A. H. (1985). Geometric-Optical Modeling of a Conifer Forest Canopy. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, GE-23, 705–721.
- Markwell, J., Osterman, J. C., & Mitchell, J. C. (1995). Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, 46, 467–472.
- McClendon, J. H., & Fokshansky, L. (1990). On the interpretation of absorption spectra of leaves-1. Introduction and the correction of leaf spectra for surface reflection. *Photochemistry and Photobiology*, 51, 203–210.
- Mistele, B., & Schmidhalter, U. (2008). Estimating the nitrogen nutrition index using spectral canopy reflectance measurements. *European Journal of Agronomy*, 29, 184.
- Moreau, O., Curt, J. N., & Leroux, T. (2000). Contrast and colorimetry measurements versus viewing angle for microdisplays. *Proceedings of SPIE*, 4207, 20–30.
- Nelder, J. A., & Mead, R. A. (1965). A simplex method for function optimization. *The Computer Journal*, 7, 308–313.
- Obein, G., Knoblauch, K., & Viénot, F. (2004). Difference scaling of gloss: Nonlinearity, binocularity, and constancy. *Journal of Vision*, 4.
- Obein, G., Leroux, T., & Viénot, F. (2001). Bi-directional reflectance distribution factor and gloss scales. In B. E. P. T. N. Rogowitz (Ed.), *Human Vision and Electronic Imaging VI* (pp. 279–290).
- Rondeaux, G., & Vanderbilt, V. C. (1993). Specularly modified vegetation indices to estimate photosynthetic activity. *International Journal of Remote Sensing*, 14, 1815–1823.
- Roujean, J. L., Leroy, M., & Deschamps, P. Y. (1992). A bidirectional reflectance model of the Earth's surface for the correction of remote sensing data. *Journal of Geophysical Research*, 97, 20455–20468.
- Rykowski, R. A. L., J. (2008). *Novel Technology for view angle performance measurement* (pp. 41–42). : IMID/IDMC.
- Saleh, B. E. A., & Teich, M. C. (1991). *Fundamentals of Photonics*.
- Sanz, C., Espana, M., Baret, F., Weiss, M., Vaillant, L., Hanocq, J. F., et al. (1997). Bi-directional characteristics of leaf reflectance and transmittance: measurement and influence on canopy bi-directional reflectance. In G. Guyot, & T. Hulpin (Eds.), *7th International Symposium on physical measurements and signatures in remote sensing* (pp. 583–590). Courchevel (France): Balkema.
- Sarto, A. W., Woldemar, C. M., & Vanderbilt, V. C. (1989). Polarized Light Angle instrument I polarized incidence (POLAR-I). In SPIE (Ed.), San Diego, California, (USA: SPIE.
- Saunders, J. L. (1942). Calculation of the color of pigmented plastics. *Journal of the Optical Society of America*, 32, 727–729.
- Slaton, M. R., Hunt, E. R. J., & Smith, W. K. (2001). Estimating near-infrared leaf reflectance from leaf structural characteristics. *American Journal of Botany*, 88, 278–284.
- Stuckens, J., Somers, B., Delalieux, S., Verstraeten, W. W., & Coppin, P. (2009). The impact of common assumptions on canopy radiative transfer simulations: a case study in Citrus orchards. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 110, 1–21.
- Terashima, I., & Saeki, T. (1983). Light environment within a leaf I. Optical properties of paradermal sections of Camellia leaves with special reference to differences in the optical properties of palisade and spongy tissues. *Plant & Cell Physiology*, 24, 1493–1501.
- Torrance, K. E., & Sparrow, E. M. (1967). Theory for off-specular reflection from roughened surfaces. *Journal of the Optical Society of America*, 57, 1105–1112.
- Walter-Shea, E. A., Norman, J. M., & Blad, B. L. (1989). Leaf bidirectional reflectance and transmittance in corn and soybean. *Remote Sensing of Environment*, 29, 161–174.

1 Title : A leaf BRDF model taking into account the azimuthal anisotropy of monocotyledonous leaf
2 surface.

3 Comar Alexis ^{1,2}, Baret Frederic², Simonot Lionel⁵, Vienot Françoise³, Obein Gael⁴, Menevaux Daniel⁵,
4 de Solan Benoit^{1,2}

5 ¹UMR EMMAH, INRA Paca -UAPV, Domaine Saint-Paul, site Agroparc, 84914 Avignon, France

6 ²Arvalis Institut du Végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, 75116 Paris, France

7 ³Muséum national d'Histoire Naturelle, CRCC (MHHN-CNRS-MCC), 36 rue Geoffroy Saint-Hilaire, 75005 Paris, France

8 ⁴ CNAM

9 ⁵Poitier

10 **Abstract:**

11 To our knowledge only one BRDF model based on physical consideration has been adapted for
12 leaves simulations. It is the (Cook and Torrance, 1981) which has been tested on 3 dicotyledonous by
13 (L. Bousquet et al., 2005). (Combes et al., 2007; Comar et al., 2012) observations showed that
14 monocotyledons leaves have an azimuthally anisotropy that never has been taken into account
15 previously. Inspired by (Ward, 1992) model which takes into account such anisotropy, this study
16 proposes an extension of Cook Torrance model to Monocotyledon leaves. This was done thanks to
17 the decomposition of the roughness parameter in order to take into account the specificity of the
18 parallel veins. The developed model is tested on sorghum and wheat leaf measurements acquired
19 using a conoscope system. Result shows that the new model better fit the measurement than
20 previous model: RMSE computed other all the BRDF measurement for both leaves decreases from
21 ≈ 0.6 for the lambert model to ≈ 0.4 for the classical Cook Torrance model to ≈ 0.3 for the newly
22 developed model. A detailed inspection of the model and measured feature shows that the main
23 pattern of azimuth anisotropy which is due to the parallel vascular system of monocotyledonous
24 leaves is well modeled. The input parameter retrieved from the fitting shows a plausible refraction
25 index ($n \approx 1.32$) for both leaves and a roughness twice as important when perpendicular to veins
26 ($\sigma_y \approx [0.56; 0.46]$; $\sigma_x \approx [0.27; 0.18]$) for respectively sorgho and wheat. The major error of the
27 model probably comes from the hypothesis that the volume scattering is lambertian which would
28 explain the differences between the model and the measurement out of the specular lobe. None the
29 less the newly defined model greatly improves the modelisation of monocotyledonous leaves. Such
30 advances in leaf BRDF modelisation are very important to improve modelisation on two scales: first
31 it gives new possibility to improve the classical leaf radiative transfert model of leaves such as
32 PROSPECT (S. Jacquemoud and Baret, 1990) second it gives a new tool to accurately model radiative
33 transfer of a monocotyledonous canopy using 3D scenery and ray tracing technics.

34 **Key words:** Sorghum, wheat, leaf, BRDF, BRF, reflectance, conoscope , goniometer, light scattering.

1 Introduction

Leaf surface features, the internal structure and the biochemical composition drive the leaf optical properties. A wide range of measurements have focused on the spectral variation of leaf reflectance and transmittance to infer the corresponding biochemical composition, either from empirical relationships (Gitelson et al., 2003; Cerovic et al., 2012) or from radiative transfer model inversion at the leaf level (Jacquemoud & Baret 1990; Fourty et al. 1996; Feret et al. 2008). While many acquisition methods rely on fixed geometrical configuration for estimating bi-directional reflectance factors (Nicodemus, 1977), measurements are also often achieved using an integrating sphere to measure the directional hemispherical reflectance or transmittance (Hosgood et al., 1994).

In this context, experimental acquisition setups are designed to minimize potential directional effects of leaf scattering properties that may confound the retrieval of leaf biochemical composition from the measured reflectance or transmittance. Leaves depart from perfect lambertian behavior as reported by a number of studies (Breece and Holmes 1971; Howard 1971; Brakke et al. 1989). As a matter of fact, most leaves show a specular behavior, particularly for near grazing illumination directions because: a significant fraction of the incoming light is directly reflected by the epidermis. This fraction of light doesn't interact with the leaf volume and therefore doesn't carry information on leaf biochemical composition (Comar et al., 2012). Knowledge of the leaf bidirectional reflectance distribution function (BRDF) appears therefore important in order to optimize the measurement configuration when estimating leaf biochemical composition from their optical properties. It is also critical when using close range imaging techniques at the canopy level to infer leaf biochemical composition (Vigneau et al., 2011). Finally, the remote sensing estimates of canopy characteristics should be also dependent on leaf directional properties. Unfortunately, conclusions remains scarce and contradictory: Stuckens et al. (2009) have demonstrated using canopy radiative transfer model simulations that significant differences can be observed over citrus canopy reflectance when considering a directional component to leaves as defined by Bousquet et al. (2005). On the contrary, Chelle (2006) has shown that lambertian assumption for leaves could be acceptable when simulating the light absorbed by a wheat canopy as compared to an azimuthally isotropic leaf BRDF assumption. Lewis (2007) concluded in a review on 3D canopy modeling for remote sensing applications that the accuracy of canopy reflectance simulations was suffering from the lack of knowledge on leaf directional properties.

The measurement of leaf directional properties is complex and needs sophisticated apparatus such as a gonireflectometer (Woolley, 1971) , an imaging sphere (Sarto et al., 1990) or a conoscopic

69 based device (Comar et al., 2012). Other existing systems could be used (Marschner et al., 2000) but
70 has never to our knowledge been used over leaves. Both illuminating and viewing directions should
71 be varied to acquire the whole BRDF features. Further, (Combes et al., 2007) and Comar et al. (2012)
72 have demonstrated that fetuque and wheat leaves parallel vascular system induce an oriented
73 roughness pattern that makes the leaf reflectance azimuthally anisotropic. Models describing the
74 leaf surface BRDF including all these features are thus highly desired for understanding the canopy
75 reflectance as well as accessing in a more robust way leaf biochemical composition. The use of
76 physically based models is interesting, because it provides meaningful parameters that usually
77 describe leaf surface features, and allows the computation of the BRDF over all the direction of
78 illumination and observation. The parameters of the model can be adjusted to a limited number of
79 bidirectionnal reflectance measurements.

81 Modeling BRDF has been intensively studied for computer graphic applications. A number of
82 physically based models consider the surface as a statistical arrangement of micro-facets with the
83 same properties and with a given distribution of their orientation. The micro-facets are assumed
84 either lambertian (Oren and Nayar, 1994) or completely specular and described by the Fresnel
85 equation (Torrance and Sparrow, 1967; Cook and Torrance, 1981). More recently, Simonot (2009)
86 proposed a BRDF model with facets having both lambertian and specular components. Apart from
87 the behavior of individual facets, their arrangement on the leaf surface creates shadows and masks
88 that contribute to the leaf BRDF. Blinn (1977) proposed micro-facets arranged in V groove patterns
89 to simplify the Smith's (1967) shadowing/masking expression derived from Beckmann (1967).
90 Ashikmin et al. (2000) proposed an elegant way to link the micro-facet arrangement with the
91 shadowing/masking term. However, only few BRDF models except the Ward (1992) model consider
92 the possible azimuthally anisotropic surfaces as observed over monocotyledonous leaves. The Ward
93 model is based on an approximation of the Cook & Torrance (1981) model where Fresnel and
94 shadowing/masking terms are merged. (Kurt et al., 2010) tried to solve this issue by making an
95 "physically plausible" BRDF model based on Ward's work.

97 Only Bousquet et al. (2005) reported on the confrontation between physical models and leaf BRDF
98 measurements using Cook & Torrance (1981) model that requires to adjust the refraction index and
99 a roughness parameter that drives the micro-facet distribution. Results have shown a good
100 agreement with the BRF (Bidirectional Reflectance Factor) measured with a gonireflectometer over
101 3 dicotyledonous leaves showing no anisotropic roughness features.

The objective of this paper is to implement and evaluate a physically based BRDF model able to describe realistically monocotyledonous leaves BRF showing azimuthally anisotropic roughness. In a first part, the Cook & Torrance (1981) model is adapted to azimuthally anisotropic distribution of the micro-facets based on Ward (1992) improvement of (Beckmann and Spizzichino, 1963) facet distribution. The resulting model is then adjusted over BRF measurements of wheat and sorghum leaves achieved in the visible spectral domain. Results are discussed in terms of accuracy of BRF simulations compared to previous models and signification of the estimated parameters.

2 Model development

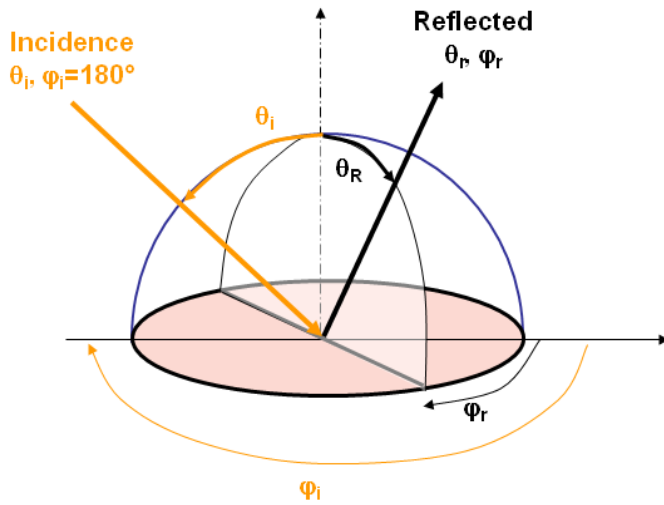


Figure 1: Configuration for a BRDF measurement: localisation of the incident and reflected beam

For a given wavelength, the leaf BRD, $BRDF_{tot}$, is generally considered as the sum of a diffuse component coming from the scattering within the leaf volume, $BRDF_{diff}$, and a directional component, $BRDF_{spec}$ that originates from light reflected at the leaf surface:

$$BRDF_{tot}(\theta_i, \phi_i; \theta_r, \phi_r) = BRDF_{spec}(\theta_i, \phi_i; \theta_r, \phi_r) + BRDF_{diff} \quad [1]$$

Where θ and ϕ are respectively the zenith and azimuth angles and subscripts i and r refer respectively to the illumination and reflected directions. The term $BRDF_{diff}$ is assumed lambertian while the $BRDF_{spec}$ term is dependent on the geometrical configuration and mostly coming from specular reflection. Similarly to Cook and Torrance (1981), the assumptions made to model $BRDF_{spec}$ are:

- The micro-facets have a mirror-like comportment. Thus they reflect light in the Descartes direction. The half angle between the illumination and reflection directions, θ_h given by:

$$\cos(2\theta_h) = \cos(\theta_i)\cos(\theta_r) + \sin(\theta_i)\sin(\theta_r)[\cos(\phi_i)\cos(\phi_r) + \sin(\phi_i)\sin(\phi_r)]$$
- All individual facets have the same surface which is noted α .
- There is n_{tot} facets which orientation is described following the probability $P(\alpha, \beta)$ where α is the zenithal angle of the normal of the facet and β is its azimuth angle. $P(\alpha, \beta)$ verifies the

following

property:

$$\int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} P(\alpha, \beta) \sin(\alpha) d\alpha d\beta = 1 \quad [2]$$

The orientation of the facets that contribute to the specular reflection is linked to the illumination and view directions: $\alpha(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \cos^{-1} \left(\frac{\cos(\theta_i) \cdot \cos(\theta_r)}{2 \cdot \cos(\theta_h)} \right)$ and

$$\beta(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \tan^{-1} \left(\frac{\sin(\theta_i) \sin(\varphi_i) + \sin(\theta_r) \sin(\varphi_r)}{\sin(\theta_i) \cos(\varphi_i) + \sin(\theta_r) \cos(\varphi_r)} \right)$$

The surface roughness of dicotyledonous leaves considered here with stripes aligned along the main leaf dimension imposes a radial symmetry of the facet distribution which expresses as:

$$P(\alpha, \beta) = P(\alpha, \beta + \pi) \text{ with } \alpha \in [0, \pi/2] \text{ and } \beta \in [0, 2\pi] \quad [3]$$

- The micro-facets are arranged in V shaped grooves with the sides equal but opposite angles to the average surface normal. This allows using the Blinn (1977) shadowing/masking factor.

From the previous assumptions, the specular component term of the BRDF is given by:

$$BRDF_{spec}(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} \frac{F(n; \theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) \cdot SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)}{4 \cos(\theta_i) \cos(\theta_r)} \quad [4]$$

With:

- $P_{int} = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} P(\alpha, \beta) \cos(\alpha) \sin(\alpha) d\alpha d\beta \quad [5]$
- $F(n; \theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)$ is the Fresnel term for dielectric materials, unpolarized incident light (Fresnel, 1868):

$$F(n, \theta_h) = \frac{1}{2} \cdot \left(\frac{G-C}{G+C} \right)^2 \cdot \left[1 + \frac{C \cdot (G+C) - 1}{(C \cdot (G+C) + 1)^2} \right] \quad [6]$$

With: $G = n^2 + C^2 - 1$ and $C = \cos(\theta_h)$

- $SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)$ is the shadowing/masking term defined by Blinn (1977):

$$SM = \min(1, E_1, E_2) \text{ with } E_1 = \frac{2 \cos(\alpha) \cos(\theta_r)}{\cos(\theta_h)} \text{ and } E_2 = \frac{2 \cos(\alpha) \cos(\theta_i)}{\cos(\theta_h)}$$

The demonstration of the model were successively made by Torrance and Sparrow (1967), Cook and Torrance (1981). The authors however consider it was important to re-demonstrate the micro-facet model with the regard of linking the definitions of optics with the theory of the micro-facet model and the practice with the measurements.

The leaf roughness is assumed to be described by Beckman (1962) distribution as proposed Bousquet et al. (2005):

$$P(\alpha, \beta) = \frac{c(\sigma)}{\cos^4(\alpha)} e^{-\left(\frac{\tan(\alpha)}{\sigma} \right)^2} \quad [7]$$

with σ being the roughness characterizing the leaf surface and $c(\sigma)$ a coefficient allowing to verify equation [2]. However as suggested by Ward (1992), the roughness was supposed to vary with the

azimuth. This is achieved by equation [7] using two orthogonal components, one along the leaf veins (σ_x), and the other perpendicular (σ_y):

$$P(\alpha, \beta) = \frac{c(\sigma_x, \sigma_y)}{\cos^4(\alpha)} \exp\left(-\tan^2(\alpha) \left(\frac{\cos^2(\beta)}{\sigma_x^2} + \frac{\sin^2(\beta)}{\sigma_y^2}\right)\right) \quad [8]$$

With $c(\sigma_x, \sigma_y)$ a coefficient allowing to verify equation [2]. Note that this expression verifies the radial symmetry expected for such surface (equation [2]). From equation [5] and [8], the term P_{int} is computed (see details in annex):

$$P_{int} = c(\sigma_x, \sigma_y) \pi \sigma_x \sigma_y \quad [9]$$

Replacing the previously derived expressions of $P(\alpha, \beta)$ (equation [8]) and P_{int} (equation [9]) in equation [4], the $BRDF_{spec}$ term writes:

$$BRDF_{spec}(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{e^{-\tan^2(\alpha) \left(\frac{\cos^2(\beta)}{\sigma_x^2} + \frac{\sin^2(\beta)}{\sigma_y^2}\right)}}{\cos^4(\alpha)} \frac{F(n, \theta_h) SM(\theta_i, \theta_r)}{4 \sigma_x \sigma_y \pi \cos(\theta_i) \cos(\theta_r)} \quad [10]$$

As the measurements made in this study corresponds to a Bi-directional Reflectance factor (BRF) which is defined by (Nicodemus, 1977) as “the ratio of the radiant flux actually reflected by a sample surface to that which would be reflected into the same reflected-beam geometry by an ideal (lossless) perfectly diffuse (Lambertian) standard surface irradiated in exactly the same way as the sample”; the BRF is expressed with no units whereas BRDF is in sr^{-1} and the relationship between them is: $BRF = \pi \times BRDF$.

In the study it is a BRF_{spec} that was used to confront the measure with the model as explain in the annex.

3 Materials and methods

3.1 Reflectance measurements

The BRF (Bi-directional reflectance factor) of the wheat leaf comes from Comar et al. (2012) study. A sorghum leaf, collected in the Museum d’Histoire Naturelle de Paris has been measured using the same protocol. In both case, an EZ Contrast 80M of Eldim SA (www.eldim.fr) was used to measure the BRF of wheat (*triticum aestivum*) and sorghum (*Sorghum hapalensis*) leaves. The spectral relative radiance is measured through 3 broad spectral bands filters with a transmittance approaching the color matching functions \bar{x} , \bar{y} and \bar{z} of the standard observer CIE 1931. $\bar{x}(\lambda)$, $\bar{y}(\lambda)$ and $\bar{z}(\lambda)$ are respectively located in the blue, the green and the red of the visible spectrum and will allow us to study roughly the wavelength dependence of our reflective properties. Measurements are performed for zenithal view angle from $0^\circ < \theta_r < 80^\circ$ and all azimuth angles ($0^\circ < \varphi_i < 360^\circ$) by 1° step. The illumination zenith angle was fixed at $\theta_i = 45^\circ$ while the incident azimuth was either parallel to the veins of the leaf ($\varphi_i = 0^\circ$) or perpendicular ($\varphi_i = 90^\circ$) as illustrated in Figure 2. Wheat BRF measurements are made upon 5 leaves with 3 replicates measurements on each leaf,

leading to 15 separate acquisitions. For sorghum 10 replicates over a single leaf were acquired for the two incident directions considered. In both cases we took advantage of the expected symmetry to double the sampling. More details on the BRDF measurement and the EZ Contrast device can be found in Comar et al. (2012).

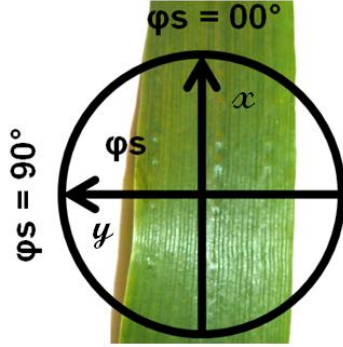


Figure 2: The x and y orientation to describe monocotyledon leaf roughness. Used with the permission of (Comar et al., 2012).

The relative radiance measurements were transformed into BRF values using a calibration coefficient γ :

$$BRF_{leaf}(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r, \lambda) = \gamma S_{leaf}(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r, \lambda) \quad [11]$$

Where S_{leaf} is the signal of measurement that is proportional to the radiance. The calibration coefficient was computed by comparison with a reference spectralon standard with known hemispherical directional reflectance factor(HDRF), assuming that the furnish HDRF by Labsphere (www.labsphere.com) at $\theta_r = 8^\circ$ view zenith angle is identical to the Directional Hemispherical reflectance factor (DHRF) at $\theta_i = 45^\circ$ incidence zenith angle:

$$HDRF_{ref}(\theta_i = 8^\circ, \lambda) = 0.991 \approx DHRF_{ref}(\theta_r = 45^\circ, \varphi_i, \lambda) \quad [12]$$

The $DHRF_{ref}(45^\circ, \varphi_i, \lambda)$ may be computed by integrating the measured reflected signal, $S_{ref}(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r, \lambda)$, over the hemisphere:

$$DHRF_{ref}(45^\circ, \varphi_i, \lambda) = \frac{\sum_{\varphi_r=0^\circ}^{360^\circ} \sum_{\theta_r=0^\circ}^{90^\circ} \alpha S_{ref}(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r, \lambda) \sin(\theta_r) \cos(\theta_r)}{\sum_{\varphi_r=0^\circ}^{360^\circ} \sum_{\theta_r=0^\circ}^{90^\circ} \sin(\theta_r) \cos(\theta_r)} \quad [13]$$

The calibration coefficient α in equation [13] using the value of $DHRF_{ref}(\theta_r = 45^\circ, \varphi_i, \lambda)$ provided in equation [12]. Because of the absence of measurements above 80° , the integration over the whole range of view zenith angles in equation [13] was computed assuming a linear variation with θ_r of the term $S_{ref}(45^\circ, \varphi_i, \theta_r, \varphi_r, \lambda) \sin(\theta_r) \cos(\theta_r)$ for $80^\circ < \theta_i < 90^\circ$, taking advantage of the limits of the cosines function at $\theta_r = 90^\circ$, then $\cos(\theta_r) = 0$. Note that equation [13] could be also applied to leaf measurements to compute the leaf DHRF, $DHRF_{leaf}(45^\circ, \varphi_i, \lambda)$ as it will be used later. For further details on the notations used the reader should refer to (Nicodemus, 1977).

3.2 Model adjustment to observations

The BRDF model described in equations [1] with the specular component described by equation [10] was adjusted to the BRF measurements available by estimating the set of parameters $[n, \sigma_x, \sigma_y, DHRF_{diff}]$ by minimizing the following cost function named $RMSE_{fit}$:

$$RMSE_{fit} = \sqrt{\frac{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} \sin(\theta_r) (BRF - \overline{BRF})^2}{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} \sin(\theta_r)}} \quad [14]$$

where the illumination configurations are $(\theta_i = 45^\circ, \varphi_i = 0^\circ$ and $\varphi_i = 90^\circ)$ and the reflected directions $(0.5^\circ < \theta_r < 79.5^\circ$ and $0.5^\circ < \varphi_r < 359.5^\circ)$. For the inversion purposes the BRDF models outputs were transformed into BRF values. The $\sin(\theta_r)$ term in equation [14] was introduced to provide a stronger contribution of the zenith angle in order to even the sampling of the EZ-Contrast. The simplex algorithm (Nelder & Mead 1965) as implemented in the Matlab software was used for the minimization of cost function $RMSE_{fit}$ (equation [14]).

To characterize the quality of fit between the model simulations and the measurements, two other metrics are defined. Firstly the $RMSE_{DHRF}$ given by:

$$RMSE_{DHRF} = \sqrt{\frac{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} \cos(\theta_r) \sin(\theta_r) (BRF - \overline{BRF})^2}{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} \cos(\theta_r) \sin(\theta_r)}} \quad [15]$$

It differs from the $RMSE_{fit}$ (equation [14]) by the $\sin(\theta_r) \cos(\theta_r)$ term used in the DHRF angular integration (equation [13]). It would therefore be better suited for DHRF values. Although this expression could have also been used as a cost function to minimize, the $\sin(\theta_r) \cos(\theta_r)$ term gives too much weight to the zenith angles close to 45° where BRDF features are actually pronounced under our measurement configuration, minimizing the sensitivity for the other zenith angles. This explains why the simple $\sin(\theta_r)$ in equation [14] was preferred to better describe the BRDF features. Finally, the classical Root Mean Square Error (RMSE) will be also used to directly evaluate the difference between the model and the measurements without taking into account the geometrical deformations imposed by the system outputs:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{\varphi_i=[0\ 90^\circ]} \sum_{\varphi_r=0.5}^{359.5} \sum_{\theta_r=0.5}^{79.5} (BRF - \overline{BRF})^2}{n-1}} \quad [16]$$

4 Results

The BRDF patterns of sorghum and wheat leaves will first be described with emphasis on the contribution of the several components of the DHRF. Then our model performances will be described and compared to the two models found in the literature for leaf: lambert model and Cook Torrance model.

4.1 Sorghum and wheat leaf BRDF features

The BRDF features of sorghum and wheat leaves (Figure 3 and Table 2) are in good agreement with Comar et al. (2012) results. A strong specular lobe is observed in the specular direction when illuminating the leaf in a direction perpendicular to the veins ($\varphi_i = 90^\circ$). Conversely, the specular lobe is less pronounced but much broader when illuminating the leaf in a direction parallel to the veins ($\varphi_i = 0^\circ$). This was explained by the distribution of micro-facet orientations: when the incoming light parallel to the veins, the ‘flanks’ of the veins are scattering light in each side of the principal plane, making the specular lobe spanning over a directional domain extended in azimuth (Erreur ! Source du renvoi introuvable.). This confirms previous observations on the azimuthally anisotropic BRDF features of monocotyledonous leaves (Combes et al., 2007; Comar et al., 2012). Note that the maximum BRF value in the specular feature is observed in the specular direction ($\theta_r = 45^\circ$) for parallel illumination ($\varphi_i = 0^\circ$), while the maximum reflectance is achieved for $70^\circ < \theta_r < 77^\circ$ for perpendicular illumination ($\varphi_i = 90^\circ$).

The hot-spot feature is pronounced for illumination perpendicular to the veins ($\varphi_i = 90^\circ$) since shadowing effects by the veins are much more pronounced as compared to illumination parallel to the veins: for $\varphi_i = 0^\circ$, almost no shadowing effect by the veins is expected, resulting into almost no hot-spot feature (Figure 3).

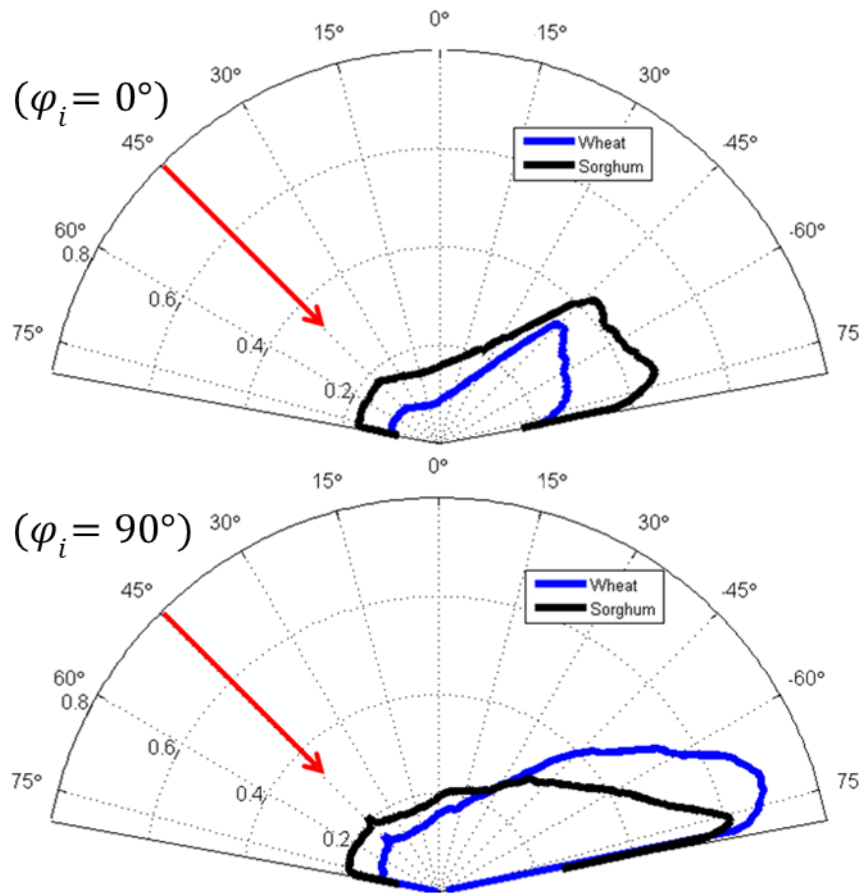


Figure 3: Sorghum and wheat measured BRF in a 2D polar representation in the illumination plan for the green band (Y). The red arrow represents the incident direction.

The reflectance values for wheat are generally lower than those of the sorghum leaves, except for the specular direction when illuminated perpendicularly to the veins (Figure 3). The lower wheat reflectance values that go with a darker appearance might be mainly explained by a larger chlorophyll and carotenoid content for wheat as compared to that of sorghum leaves. This is consistent with a rough estimate of BRF_{diff} as proposed by Comar et al. (2012) that corresponds mainly to volume scattering that depends strongly on absorption. The BRF_{diff} was proposed to be approximated as the minimum of the BRF values. However in order to avoid possible local measurement errors observed by Comar (2012) it was approximated by the value of the observed BRF corresponding to the 5% percentile computed over all the directions. Note that because the diffuse component is assumed completely lambertian, $BRF_{diff} = DHRF_{diff}$. The $DHRF_{diff}$ varies significantly with the wavelength as a result of the absorption features of leaf pigments including chlorophyll and carotenoids. The $DHRF_{diff}$ values for a given waveband and a given species shows only small variation between the two illumination conditions (Table 2)

The application of equation [1] to directional hemispherical reflectance allows to compute the specular component, $DHRF_{spec}$, as the difference between the $DHRF_{tot}$ and the $DHRF_{diff}$. Results

show that the $DHRF_{spec}$ is almost independent from the waveband considered: as a matter of fact, the refraction index that mainly governs the spectral variation of the specular component is expected to vary only slightly in the visible domain. The $DHRF_{spec}$ values show also only slight variation between the two illumination conditions for a given waveband and species (Table 2) despite large differences in the directional distribution patterns (Figure 4). Wheat and sorghum leaves show similar patterns for each illumination directions. However, the more anisotropic reflectance pattern observed for wheat is mainly explained by the differences between surface features as shown by the Scanning Electronic Microscope (SEM) images of Figure 3: wheat leaves are rougher with veins separated by relatively short distances as compared to the sorghum surface that appears smoother due to veins separated by larger distances. In addition, the trichomes observed on wheat leaves may also partly explain the observed differences in leaf reflectance.

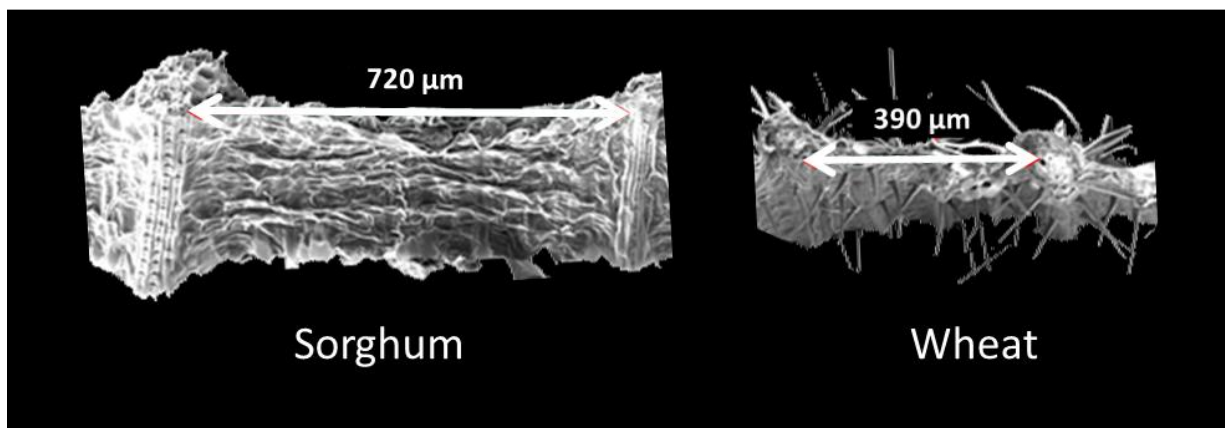


Figure 4: Scanning Electronic Microscope (SEM) imagery of a Sorghum and a wheat leaf sections. The two images have been scaled to be comparable. Note that the Sorghum has much more spaced veins and no trichomes in comparison to wheat.

4.2 BRDF model performances

The model described by equations [1] and [10] as well as the previous model used on leaf: lambertian model and Cook Torrance model (L. Bousquet et al., 2005) were adjusted for each species and each waveband independently. Note that the 3 BRDF models don't describe the backscattering hotspot feature nor does the previous models found in the literature. However as shown previously (Figure 3) it is a small and local feature that was demonstrated to contribute only marginally to the total DHRF (Comar et al. 2012) and was therefore neglected. The minimization process on the new model was completed with success for all situations, leading to a $RMSE_{fit}$ value of 0.041 for sorghum and 0.036 for wheat in the green waveband with a relatively good match with the measured BRF values (figure 5 and 6). The $RMSE_{DHRF}$ shows that the error of fit regarding the total DHRF is twice as low for the new model compared to the lambertian hypothesis. This $RMSE_{DHRF}$ corresponds to about a sixth of the total leaf DHRF. The $RMSE_{DHRF}$ of the azimuthally

isotropic model of Cook Torrance is a little higher than the one of the new model taking into account the anisotropy. This comforts us on the fact that adding an anisotropy factor to Cook-Torrance model is useful to accurately simulate monocotyledonous leaves.

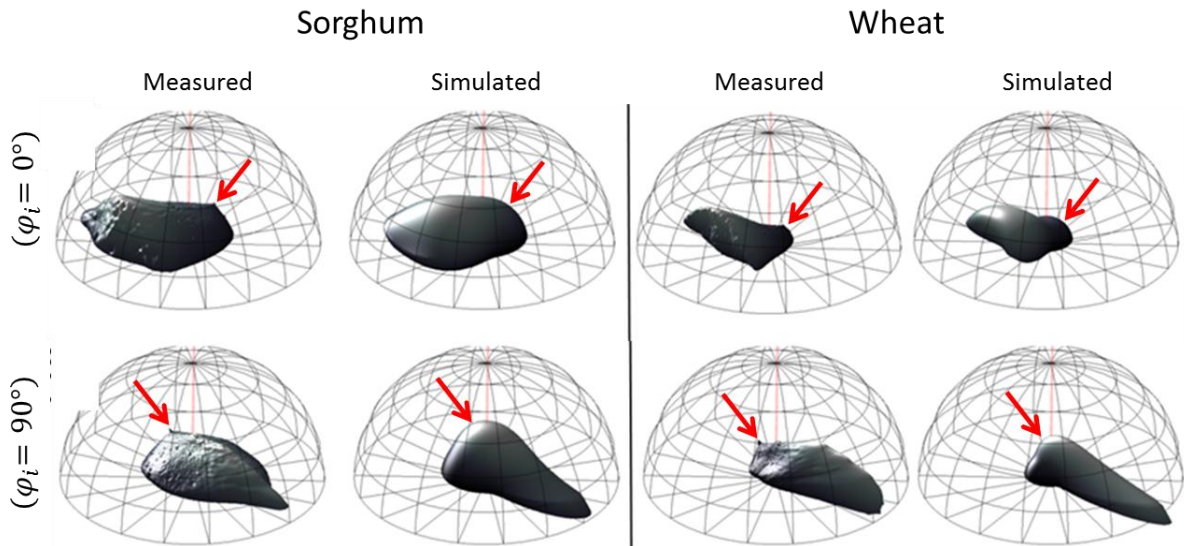


Figure 5: Measured and simulated BRF values for sorghum and wheat leaves observed at $\theta_i = 45^\circ$ illumination angle for $\phi_i = 0^\circ$ (top) and $\phi_i = 90^\circ$ (bottom) as observed in through the $y(\lambda)$ filter. In the 3D representation in spherical coordinates, each point on the surface

Tableau 1: Values of the estimated parameters of the different BRDF models with the hypothesis of isotropic in zenith and azimuth (Lambertian), isotropic in azimuth and anisotropic in zenith and anisotropic in both zenith and azimuth.

Model	Variables properties	Species	Sorghum			Wheat		
			$x(\lambda):re$ d	$y(\lambda):gree$ n	$z(\lambda):bl$ ue	$x(\lambda):re$ d	$y(\lambda):gree$ n	$z(\lambda):blu$ e
Lambertian model	Goodness of fit	$RMSE_{fit}$	0.071	0.073	0.066	0.072	0.076	0.074
		$RMSE_{DHRF}$	0.064	0.065	0.058	0.066	0.069	0.067
		$RMSE$	0.064	0.065	0.058	0.063	0.066	0.065
	Retrieved parameters	$BRF_{diff} (DHRF_{diff})$	0.190	0.213	0.129	0.118	0.138	0.113
Cook-Torrance model	Goodness of fit	$RMSE_{fit}$	0.045	0.0461	0.038	0.044	0.047	0.046
		$RMSE_{DHRF}$	0.039	0.040	0.033	0.038	0.040	0.039
		$RMSE$	0.041	0.042	0.035	0.039	0.041	0.040
	Retrieved parameters	n	1.42	1.44	1.40	1.26	1.27	1.27
		σ	0.506	0.516	0.498	0.225	0.229	0.250
		$BRF_{diff} (DHRF_{diff})$	0.151	0.173	0.093	0.095	0.114	0.088
New model including	Goodness of fit	$RMSE_{fit}$	0.040	0.041	0.033	0.034	0.036	0.033
		$RMSE_{DHRF}$	0.033	0.034	0.028	0.028	0.029	0.027

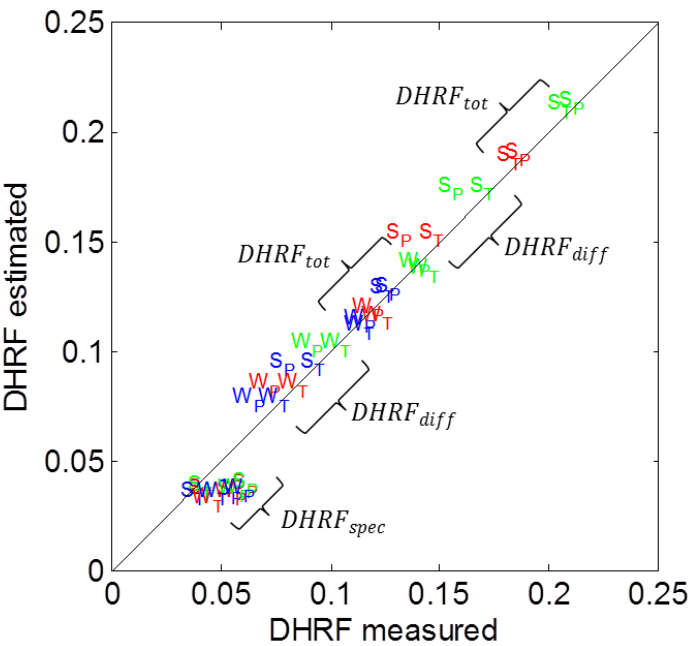
azimuth anisotropy		<i>RMSE</i>	0.037	0.038	0.030	0.029	0.031	0.029
	Retrieved parameters	n	1.34	1.35	1.33	1.31	1.32	1.33
		σ_x	0.264	0.269	0.270	0.182	0.184	0.194
		σ_y	0.556	0.566	0.560	0.456	0.464	0.502
		BRF_{diff} ($DHRF_{diff}$)	0.158	0.180	0.099	0.089	0.108	0.081

Inspection of the model parameters shows that the estimated refraction index is very stable across bands and species (Table 2) as expected, with an average value close to $n = 1.3$, although the parameter fitting was conducted independently for each band and each species. Note that the retrieval of this parameter using the isotropic Cook-Torrance model yields refraction index of 1.4 for sorghum which is plausible but of only 1.27 for wheat which is lower than the one of water and is therefore not plausible. The fact that the anisotropic model has similar refraction index for both leaves is also very positive. Note that Prospect a widely used and validated model of leaf radiative transfer considers that $n=1.4$ for all leaves. This was based mainly based on Vanderbilt (1986) work on leaf polarization features. The roughness parameters are also very stable across bands (Table 2) as a result of very similar specular features in the three bands. The roughness perpendicular to the veins (σ_y) is about twice that estimated in a direction parallel to the veins (σ_x) (Table 2). However, the roughness of the sorghum appears to be larger than that of the wheat although the SEM images were suggesting the opposite (Figure 3). This could tentatively be explained by the presence of trichome on wheat leaves which could potentially diffuse some light. Experimentation to validate this hypothesis is however needed. Finally, the volume scattering represented by $DHRF_{diff}$ varies obviously with the bands, with a minimum in the blue and a maximum in the green (Table 2) in agreement with the known absorption features of chlorophyll and carotenoid pigments. The $DHRF_{diff}$ of sorghum is larger than that of the wheat (Table 2) consistently with previous observations on the measured $DHRF_{diff}$.

As a result of the general good match of the directional features by our model, the DHRF values are also closely simulated (Table 2, Figure 6) . The simulated $DHRF_{spec}$ shows very little variation across bands, species and illumination directions as compared to the measured ones, with a slight underestimation (0.0082). The $DHRF_{diff}$ shows a realistic variability across species and bands with a slight overestimation (0.0157), particularly in the case of illumination parallel to the veins ($\varphi_i = 0^\circ$). Note that our model assumes that the volume component is independent from the illumination direction which may be questioning. As a result of the previous comments, the simulated $DHRF_{tot}$ is in very good agreement with the measured ones, the biases observed for the specular and diffuse components compensating themselves with a residual overestimation of 0.0073.

348 **Tableau 2 : DHRF components of Sorghum and Wheat, issued from the measures and from the model**

Feature	Type	Illumination azimuth	Sorghum			Wheat		
			X (red)	Y (green)	Z (blue)	X (red)	Y (green)	Z (blue)
$DHRF_{diff}$	measured	$\varphi_i = 0^\circ$	0.125	0.149	0.072	0.063	0.082	0.055
		$\varphi_i = 90^\circ$	0.141	0.164	0.086	0.076	0.095	0.067
	modeled	Both	0.158	0.180	0.099	0.089	0.108	0.081
$DHRF_{spec}$	measured	$\varphi_i = 0^\circ$	0.055	0.055	0.048	0.047	0.049	0.051
		$\varphi_i = 90^\circ$	0.035	0.035	0.032	0.037	0.039	0.039
	modeled	$\varphi_i = 0^\circ$	0.030	0.031	0.029	0.027	0.029	0.030
		$\varphi_i = 90^\circ$	0.027	0.028	0.025	0.024	0.026	0.026
$DHRF_{tot}$	measured	$\varphi_i = 0^\circ$	0.180	0.204	0.120	0.110	0.131	0.106
		$\varphi_i = 90^\circ$	0.176	0.199	0.118	0.114	0.136	0.106
	modeled	$\varphi_i = 0^\circ$	0.188	0.216	0.127	0.116	0.137	0.112
		$\varphi_i = 90^\circ$	0.185	0.208	0.124	0.113	0.134	0.108



350
351 **Figure 6: Comparison between the measured total, specular and diffuse DHRF values with the corresponding simulated**
352 **ones. Bands are coded with their corresponding color. Wheat and sorghum are represented respectively by W and S**
353 **letters while the subscript indicates the illumination direction (P for $\varphi_i = 0^\circ$ and T for $\varphi_i = 90^\circ$).**

354 If the model allows simulating the DHRF components with a relatively good accuracy while
355 describing the main BRDF directional features, Figure 7 shows that a closer inspection of the
356 differences is needed. When the incidence angle is parallel to the veins ($\varphi_i = 0^\circ$), the specular

component is underestimated and the diffuse component overestimated (Figure 5 and Figure 7). On the contrary, the specular features are more closely matched for perpendicular illumination ($\varphi_i = 90^\circ$). However, the specular lobe seems to spread more in azimuth than what is actually modeled. The shape of specular pattern is also different in the illumination plane with a more pronounced specular lobe. We suspect the facet specular assumption to be the most limiting hypothesis and thus mainly responsible for this shift between model and reality. As a matter of fact it is very probable that the diffuse component of BRDF is not completely lambertian but is affected by the surface microstructure. The backward scattering as modeled through Cook-Torrance or Ward models is almost neglectable.. Oren and Nayar (1995) was the first to propose micro-facet with lambertian properties instead of specular. His work demonstrated that with such an hypothesis the diffuse component is affected. Simonot (2009) extend Oren and Nayar (1995) work by taking into consideration the interaction between a specular micro-facet with a lambertian background beneath. Such a model could be very useful to improve leaf modelisation by making a physical link between BRDF model and model taking into account the spectral absorption feature of the leaf. Another point that could improve the model is the shadowing masking hypothesis made, Ashkimi (2000) proposed an improved function which unfortunately has some implementation drawback. Finally the assumption of the anisotropy of the volume scattering ($DHRF_{diff}$) may be also questioned and could contribute to the observed backscattering features as discussed by Comar et al. (2012) in addition to a more explicit description of the backscattering hotspot.

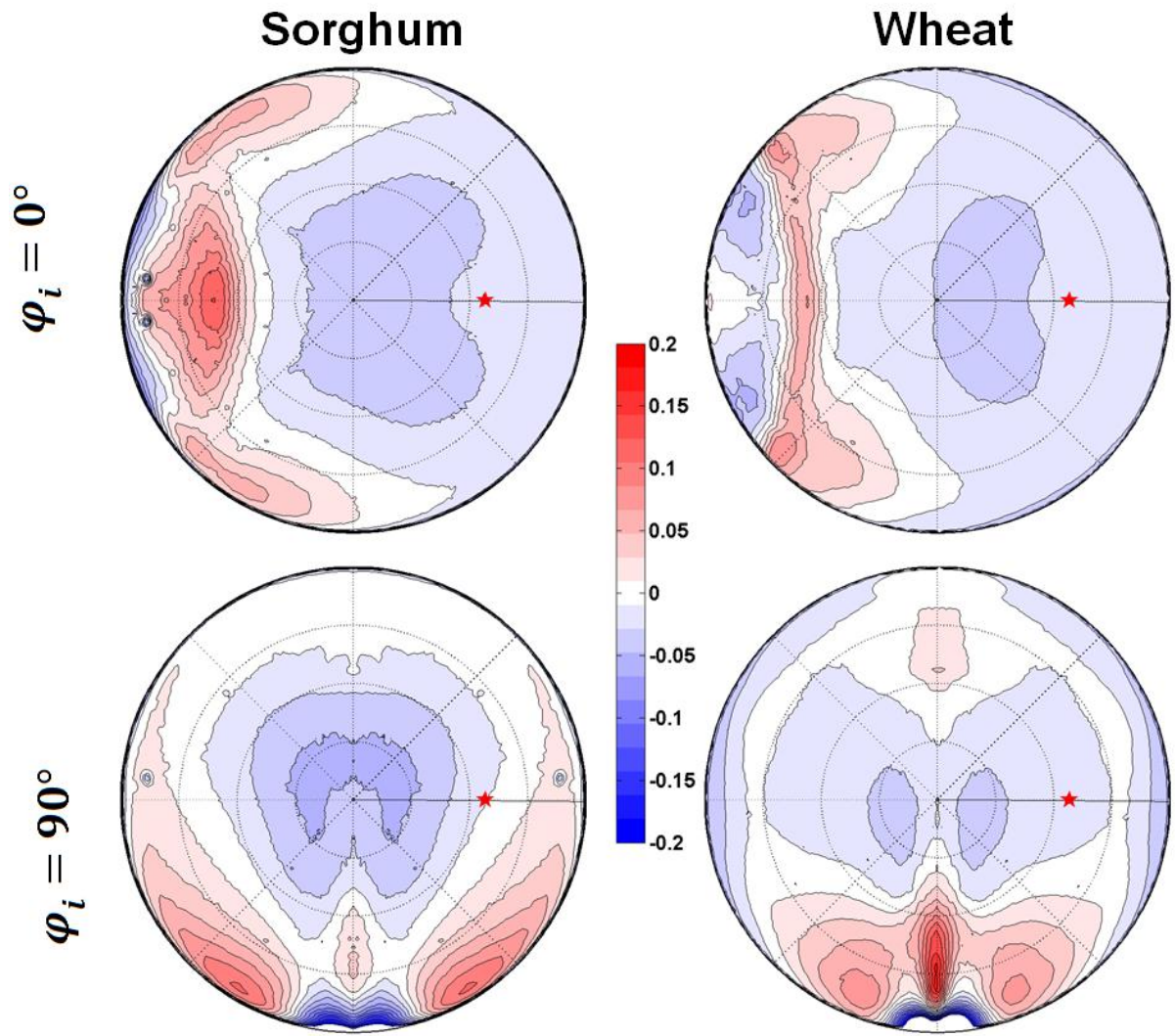


Figure 7: Drift between the measurements and the model for the Y waveband. Positive values indicate that the measurements are higher than the model conversely negative value that the model yields higher BRDF than the measurements.

5 Conclusion

The anisotropy of monocotyledonous leaves was already observed by Combes et al. (2007) and Comar et al. (2012). Our measurements on wheat and sorghum leaves confirm these results: the leaf appears more specular when illuminated perpendicular to the veins as compared to an illumination parallel to the veins. However, the DHRF of the leaf appears to be very little dependent on the illumination azimuth: the smaller specular lobe in the principal plane for parallel illumination is compensated by an increase of the azimuthal extent, conversely to the thinner but more pronounced specular lobe for perpendicular illumination. A qualitative explanation can be given,

based on the macro-scale roughness of the leaf surface due to the presence of veins: the roughness depends on the azimuth of the veins, with a maximum in a direction perpendicular to the veins.

Beyond these qualitative explanations, a physically based BRDF model was proposed. It corresponds to an extension of the azimuthally isotropic model of Cook and Torrance (1981) already used by Bousquet et al. (2005) to describe dicotyledonous leaf BRDF. Our model considers two orthogonal components for the roughness as suggested by Ward (1992). The model includes three parameters to describe the surface reflectance, i.e. the refraction index and the roughness parallel and perpendicular to the veins, and one parameter to represent the volume scattering assimilated to a lambertian comportment independent of the illumination azimuth. The parameters of the model have thus been adjusted to get a good agreement between the simulated and measured reflectance values.

The estimated refraction index was found independent from the wavelength as expected, with values around $n \approx 1.32$ both for wheat and sorghum. This estimation is close with the $n = 1.47$ measured by Vanderbilt and Grant (1986) over several leaves using the Brewster angle. Bousquet et al. (2005) found values over dicotyledonous leaves, with $1.2 < n < 1.7$ which is consistent with the values we found: 1.25 and 1.4 for the model Bousquet (2005) uses. The values of the refraction index estimated may partly compensate between the Fresnel and the shadowing-masking terms as already pointed out by Ward (1992) and thus make the retrieval of a precise estimation complicated. The estimated roughness parameters had order of magnitude of values in agreement with the range found in the literature for construction materials (Ward 1992). The roughness in the direction perpendicular to the veins is about the twice that parallel to the veins. However, the roughness values were found lower for wheat as compared to sorghum, conversely to what was expected from the scanning electronic microscope images showing a higher roughness the at the macro-scale for wheat. However, the much stronger backscattering hotspot feature observed for wheat for perpendicular illumination agrees well with a rougher surface at the macro-scale level. Artifacts in the roughness estimates may come from the specific distribution of facet orientation used. More realistic distribution of the facets could be directly derived from the BRDF measurements without any assumption on a parametric distribution law as suggested by (Ngan et al., 2005). Further, the facet distribution may be alternatively derived from the leaf surface topography measurements using Atomic Force Microscopy (Giessibl, 2003). Possible multiscale roughness features could also partly explain the uncertainties in the retrieved roughness values. The addition of a diffuse component to the micro-facet scattering properties suggested by Oren and Nayar (1995) and Simonot (2009) would

allow improving the description of the diffuse component allowing “the description of the backscattering directional features. The simple shadowing-masking function proposed by Blinn (1977) could be improved using the Ashikmin (2000) formulae. Further, the volume scattering was supposed lambertian and independent from the illumination azimuth which is probably a too crude approximation. Further work is therefore needed to get more realistic leaf BRDF simulations using the several improvements suggested above.

Although not perfect, the proposed model allows describing the main BRDF features of monocotyledonous leaves with a small number of parameters. It provides reasonable performances at the BRF level and better ones at the DHRF level. However, the validation of this model should be extended to other zenith incidence angles as well as to the near infrared domain where the volume scattering component will be much stronger than in the visible spectrum.

The proposed model may be used to optimize the measurement configuration and the data pre-processing Barnes (1989) when targeting non-destructive leaf biochemical composition from the widely used chemometric techniques (Preys et al., 2008) The model may be also used to evaluate the importance of the non-lambertian nature of leaves when simulating canopy reflectance as proposed by Stuckens et al. (2009) in the case of azimuthally isotropic leaves. This work could also motivate a new phase of radiative transfer model benchmarking as proposed by Pinty et al. (2004) and Widlowski et al. (2007) where up to now, the leaves were still considered as bi-lambertian. Finally it shows that Chelle (2006) choice for a “realistic” BRDF model weren’t realistic even though the new model shouldn’t challenge his conclusion as the most unfavorable choices were made to unsure the pertinence of his results. It would however be useful to extend theses cited work taking advantage of the new model to accurately model monocotyledons canopy.

6 References

- Ashikmin, M., Premoze, S., Shirley, P., 2000. A microfacet-based BRDF generator, in: Proceedings of the 27th annual conference on Computer graphics and interactive techniques. pp. 65–74.
- Beckmann, P., Spizzichino, A., 1963. Oxford 1.
- Blinn, J.F., 1977. Models of light reflection for computer synthesized pictures, in: ACM SIGGRAPH Computer Graphics. pp. 192–198.
- Bousquet, L., Lachérade, S., Jacquemoud, S., Moya, I., 2005. Remote Sensing of Environment 98, 201–211.
- Brakke, T., Smith, J., Harnden, J., 1989. Remote Sens. Environ. 29, 175–183.

456 Breece Iii, H.T., Holmes, R.A., 1971. *Applied optics* 10.
 457 Cerovic, Z.G., Masdoumier, G., Ghozlen, N.B., Latouche, G., 2012. *Physiologia Plantarum*
 458 146, 251–260.
 459 Chelle, M., 2006. *Ecological Modelling* 198, 219–228.
 460 Comar, A., Baret, F., Viénot, F., Yan, L., De Solan, B., 2012. *Remote Sensing of*
 461 *Environment* 121, 26–35.
 462 Combes, D., Bousquet, Laurent, Jacquemoud, Stéphane, Sinoquet, H., Varlet-Grancher, C.,
 463 Moya, Ismal, 2007. *Remote Sens. Environ.* 109, 107–117.
 464 Cook, R.L., Torrance, K.E., 1981. A reflectance model for computer graphics, in: *ACM*
 465 *SIGGRAPH Computer Graphics*. pp. 307–316.
 466 Feret, J.B., François, C., Asner, G.P., Gitelson, A.A., Martin, R.E., Bidel, L.P., Ustin, S.L.,
 467 Le Maire, G., Jacquemoud, S., 2008. *Remote Sensing of Environment* 112, 3030–
 468 3043.
 469 Fourty, T., Baret, F., Jacquemoud, S., Schmuck, G., Verdebout, J., 1996. *Remote Sensing of*
 470 *Environment* 56, 104–117.
 471 Fresnel, A., 1868. *Oeuvres complètes d’Augustin Fresnel*.
 472 Gitelson, A.A., Gritz, Y., Merzlyak, M.N., 2003. *J. Plant Physiol.* 160, 271–282.
 473 Hosgood, B., Jacquemoud, S, Andreoli, G., Verdebout, J., Pedrini, Schmuck, G., 1994. *Leaf*
 474 *Optical Properties Experiment 93 (LOPEX93)*. Office for Official Publications of the
 475 *European Communities, Ispra - Italy*.
 476 Howard, J.A., 1971. *Applied optics* 10.
 477 Jacquemoud, S., Baret, F., 1990. *Remote Sens. Environ.* 34, 75–91.
 478 Kurt, M., Szirmay-Kalos, L., Krivánek, J., 2010. *ACM SIGGRAPH Computer Graphics* 44,
 479 3.
 480 Lewis, P., 2007. *Frontis* 22, 219–229.
 481 Marschner, S.R., Westin, S.H., Lafortune, E.P.F., Torrance, K.E., 2000. *Applied Optics* 39,
 482 2592–2600.
 483 Nelder, J.A., Mead, R., 1965. *The computer journal* 7, 308–313.
 484 Ngan, A., Durand, F., Matusik, W., 2005. Experimental analysis of BRDF models, in:
 485 *Proceedings of the Eurographics Symposium on Rendering*. pp. 117–226.
 486 Nicodemus, F.E., 1977. Geometrical considerations and nomenclature for reflectance. US
 487 Dept. of Commerce, National Bureau of Standards: for sale by the Supt. of Docs., US
 488 Govt. Print. Off.

- Oren, M., Nayar, S.K., 1994. Generalization of Lambert's reflectance model, in: Proceedings of the 21st annual conference on Computer graphics and interactive techniques. pp. 239–246.
- Pinty, B., Widlowski, J.L., Taberner, M., Gobron, N., Verstraete, M.M., Disney, M., Gascon, F., Gastellu, J.P., Jiang, L., Kuusk, A., 2004. Journal of Geophysical Research 109, D06210.
- Preys, S., Roger, J.M., BoUlet, J.C., 2008. Chemometrics Intell. Lab. Syst. 91, 28–33.
- Sarto, A.W., Woldemar, C.M., Vanderbilt, V.C., 1990. Polarized Light Angle Reflectance Instrument I Polarized Incidence (POLAR:I), in: Hailey, C.J., Siegmund, O.H.W. (Eds.), pp. 220–230.
- Simonot, L., 2009. Applied optics 48, 5793–5801.
- Smith, B., 1967. Antennas and Propagation, IEEE Transactions on 15, 668–671.
- Stuckens, J., Somers, B., Delalieux, S., Verstraeten, W.W., Coppin, P., 2009. J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. 110, 1–21.
- Torrance, K.E., Sparrow, E.M., 1967. Journal of the Optical society of America 57, 1105–1114.
- Vanderbilt, V.C., Grant, L., 1986. Optical Engineering 25, 254566–254566.
- Vigneau, N., Ecartot, M., Rabatel, G., Roumet, P., 2011. Field Crop. Res. 122, 25–31.
- Ward, G.J., 1992. Computer Fraphics, ACM SIGGRAPH.
- Widlowski, J.L., Taberner, M., Pinty, B., Bruniquel-Pinel, V., Disney, M., Fernandes, R., Gastellu-Etchegorry, J.P., Gobron, N., Kuusk, A., Lavergne, T., 2007. Journal of Geophysical Research 112, D09111.
- Woolley, J.T., 1971. Plant physiology 47.

7 Appendix: Micro-facet model construction

7.1 Practical cases vs theory

There is a major flaw in the model construction present in the literature we would like to solve in this annex. The model is built over micro-facet, which means there is a finite surface detected. However the definition of BRDF stipulate that the surfaces involved are infinitely small. In general the authors make the hypothesis that the reflected surface detected by the sensor is included in the irradiated surface, in other words that $S_E = S_L$ is included in S_I . In practice this can be difficult to achieve in some configuration (which is fortunately not the case in this study). However it is important to validate the micro-facet model for both configurations previously describe (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). This should give confidence over the fact that the model is universal. Let's consider therefore two cases:

- The first case: $S_E = S_L$ is included in S_I
- The second case: S_I is included in $S_E = S_L$

In this part we propose the construction of both models. Note that the construction of the model is generic and doesn't make any hypothesis on the shadowing masking function (SM) nor on the probability of micro-facets slope apparition. This last point will be discussed in section 2.4.

Regarding the micro-facets the main notations for the model are: α the zenithal angle and β the azimuth angle of the micro facet slope, $\delta\omega_h$ is the solid angle within the normal of the micro-facet and n_{tot} the total number of micro-facets considered in S_L .

7.2 Construction in the general case

The micro-facet model consists in determining the expression of the BRDF for surfaces that are made of a succession of micro-facet for which we know the probability of the slope apparition $P(\alpha, \beta)$. The notation and the hypotheses made in the paper hold:

$$\int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} P(\alpha, \beta) d\alpha d\beta = 1 \quad (15)$$

The hypotheses on the facet properties are already specified in the paper.

In order to construct the BRDF model, we need to find an expression for the flux $\delta\Phi_r$ defined in Eq 4. It can be written as the product of four factors:

- The number $n_\mu(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)$ of microfacets concerned by the reflection. This means the micro-facets which the normal corresponds to the bisector between the incident direction and the reflexion direction:

$$n_\mu(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = P(\alpha, \beta) \delta\omega_h n_{tot} \quad (16)$$

Where $\delta\omega_h$ is the solid angle within the normal of the concerned micro-facets, and n_{tot} the total number of microfacets.

- The flux $\Phi_\mu(\theta_h)$ received per micro-facets:

$$\Phi_\mu(\theta_h) = a E_0 \delta\omega_h \quad (17)$$

- The fraction $F(n, \theta_h)$ of reflected light of a micro-facet given by Fresnel relation.
- The shading / masking function due to micro-facet interaction $SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r)$.

When injecting those factors in Eq 4 to replace $\delta\Phi_r$ we obtain:

$$L_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{a E_0 \delta\omega_h P(\alpha, \beta) \delta\omega_h n_{tot}}{S_L \cos(\theta_r) \delta\omega_r} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h) \quad (18)$$

The issue is now to simplify Eq 18, this can be done taking advantage of two relations:

- The geometrical relationship between $\delta\omega_h$ and $\delta\omega_r$:

$$\delta\omega_r = 4 \cos(\theta_h) \delta\omega_h \quad (19)$$

This relationship was first found in the literature in (RENSE 1950) paper. (Nayar et al. 1991) propose a geometrical demonstration and (Papetti et al. 2007) propose a formal demonstration of this relationship.

- The link between the surface S_L and the number of micro-facets n_{tot} . To understand this link the observed surface could be considered as a field of heights for which the micro-facets normal are necessarily located in the superior hemisphere:

$$P(\alpha, \beta) = 0 \text{ if } \cos(\alpha) < 0 \quad (20)$$

This leads to:

$$S_L = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} a n_{tot} P(\alpha, \beta) \cos(\alpha) \sin(\alpha) d\alpha d\beta \quad (21)$$

As the surface of a micro-facet is assume to be constant, it can be removed of the integral:

$$S_L = a n_{tot} P_{int} \quad (22)$$

$$\text{With } P_{int} = \int_0^{2\pi} \int_0^{\pi/2} P(\alpha, \beta) \cos(\alpha) \sin(\alpha) d\alpha d\beta$$

Then Eq 18 becomes:

$$L_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} \frac{E_0}{4 \cos(\theta_r)} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h) \quad (23)$$

However, it is mandatory to take into consideration the inclusion of the irradiance beam with the perceived beam expressed in Eq 6 and 7. The most common situation is to consider that the detection surface is included in the irradiance surface. (Cook & Torrance 1981; L. Bousquet et al. 2005) were in this configuration. Regarding BRDF we therefore obtain:

$$f_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} \frac{1}{4 \cos(\theta_r) \cos(\theta_i)} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h) \quad (24)$$

This consideration is very interesting as we demonstrated in Eq 9 that the BRDF is directly link to the BRDF by a π factor. We therefore can write

$$\rho_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \pi \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} \frac{1}{4 \cos(\theta_i) \cos(\theta_r)} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h) \quad (25)$$

7.3 Modification of the construction in case where the detected area include the irradiated area

The demonstration is the same until Eq 19. Than it is important to define a new surface: $S_{I,0}$ which is the surface irradiated when the irradiance is positioned at Nadir. There is than the relationship between $S_{I,0}$ and S_I is:

$$S_I = \frac{S_{I,0}}{\cos(\theta_i)} \quad (26)$$

Thus Eq 21 can thus be written as it is S_I that is proportional to n_{tot} :

$$\frac{S_{I,0}}{\cos(\theta_i)} = a n_{tot} P_{int} \quad (27)$$

This leads the radiance formula to be equal to:

$$L_r(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) = \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} \frac{E_0 S_{I,0}}{4 \cos(\theta_r) S_L \cos(\theta_i)} SM(\theta_i, \varphi_i; \theta_r, \varphi_r) F(n, \theta_h) \quad (28)$$

...

7.4 Discussion on the probability of apparition of the micro facets

Several facets distributions can be found in the literature. In order to be consistent with (L. Bousquet et al. 2005) work, and as it seems to be a pertinent distribution, we choose as basis (Beckmann & Spizzichino 1963) work, therefore $P(\alpha, \beta)$ could be defined as:

$$P(\alpha, \beta) = \frac{c(\sigma)}{\cos^4(\alpha)} \exp\left(-\left(\frac{\tan(\alpha)}{\sigma}\right)^2\right) \quad (29)$$

Note that $c(\sigma)$ is a function that ensures that $P(\alpha, \beta)$ is a probability as defined in Eq 15 is respected. It is then possible to compute P_{int} or with MATHEMATICA software, or by hand taking advantage of a change of variable $\xi = \tan(\alpha)$:

$$P_{int} = \sigma^2 \pi c(\sigma) \quad (30)$$

Note that in Cook-Torrance paper, it is a distribution function $D(\alpha, \beta)$ that is defined which corresponds to:

$$D(\alpha, \beta) = \frac{P(\alpha, \beta)}{P_{int}} = \frac{1}{\sigma^2 \cos^4(\alpha)} \exp\left(-\left(\frac{\tan(\alpha)}{\sigma}\right)^2\right) \quad (31)$$

In order to extend the distribution to the anisotropic, case we based ourselves on (Ward 1992) work and he proposed an extension of Beckmann distribution to two perpendicular and uncorrelated roughness (σ_x, σ_y) :

$$P(\alpha, \beta) = \frac{c(\sigma_x, \sigma_y)}{\cos^4(\alpha)} \exp\left(-\tan^2(\alpha) \left(\frac{\cos^2(\beta)}{\sigma_x^2} + \frac{\sin^2(\beta)}{\sigma_y^2}\right)\right) \quad (32)$$

This time the function $c(\sigma_x, \sigma_y)$ depends of two roughnesses and still assures that $P(\alpha, \beta)$ respect Eq 15. The same way P_{int} can be computed, or by MATHEMATICA, or by hand taking advantage of the same variable change and then by regarding the different symmetry of the results:

$$P_{int} = c(\sigma_x, \sigma_y) \pi \sigma_x \sigma_y \quad (33)$$

For the readers who are more used to the distribution function $D(\alpha, \beta)$ this leads to:

$$D(\alpha, \beta) = \frac{1}{\sigma_x \sigma_y \cos^4(\alpha)} \exp\left(-\tan^2(\alpha) \left(\frac{\cos^2(\beta)}{\sigma_x^2} + \frac{\sin^2(\beta)}{\sigma_y^2}\right)\right) \quad (34)$$

Lets us Remarque that if $(\sigma_x = \sigma_y)$ then Eq 34 is equivalent to Eq 32, showing that the proposed distribution is an extension of Beckmann distribution. We would also wish to give credit to Bousquet which already proposed such a distribution in his thesis (L. A. Bousquet 2007), but he didn't go further to introduce it his micro-facet model.